

INSECTES SOCIAUX

AUG 25 '61

BULLETIN DE L'UNION INTERNATIONALE POUR L'ÉTUDE DES INSECTES SOCIAUX



COMITÉ DE RÉDACTION

J. D. CARTHY, P. H. CHRISTENSEN, A. C. COLE,
K. GÖSSWALD, P.-P. GRASSÉ, C. JUCCI,
A. RAINIER, D. STEINBERG, T. UCHIDA

Volume VII - Septembre 1960 - Numéro 3

MASSON & Cie ÉDITEURS - PARIS

PUBLICATION PÉRIODIQUE TRIMESTRIELLE.

INSECTES SOCIAUX

Revue consacrée à l'étude de la Morphologie, de la Systématique et de la Biologie des Insectes sociaux.

Publiée sous les auspices de

L'UNION INTERNATIONALE POUR L'ÉTUDE DES INSECTES SOCIAUX

COMITÉ DE RÉDACTION

- J. D. CARTH, Department of Zoology, Queen Mary College, Mile end Road, London E 1 (England).
P. H. CHRISTENSEN, Universitetets Institut for almindelig Zoologi, Universitetsparken 3, Copenhagen, Denmark.
A. C. COLE, Department of Zoology and Entomology University of Tennessee, Knoxville, Tennessee (U. S. A.).
K. GÖSSWALD, Institut für Angewandte Zoologie der Universität Würzburg, Röntgenring 10, Würzburg, Deutschland.
P.-P. GRASSÉ, Laboratoire d'Évolution des Êtres organisés, 105, boulevard Raspail, Paris-VI^e, France.
C. JUCCI, Istituto di Zoologia « L. Spallanzani », Pavia, Italia.
A. RAIGNIER, 11, rue des Récollets, Louvain, Belgique.
D. STEINBERG, Zoological Institute, Academy of Sciences of the U. S. S. R., Leningrad 164, U. S. S. R.
T. UCHIDA, Zoological Institut Faculty of Sciences, Hokkaido University Sapporo, Japan.

PRIX DE L'ABONNEMENT POUR 1961

France et Communauté Française : **50 NF**

Étranger { Dollar U. S. A. : **14**
 { Francs Belges : **700**

Également payable au cours officiel
dans les autres monnaies.

Prix spécial pour les membres de l'Union internationale pour l'étude des Insectes sociaux.

France et Communauté Française : **45 NF**

Étranger { Dollars : **12,85**
 { Francs Belges : **642,50**

Règlement : a) Chèque sur Paris d'une banque officielle.
b) Virement par banque sur compte étranger.
c) Mandat International.
d) C. C. P. Paris 599.

ADMINISTRATION

MASSON et C^{ie}, Éditeurs

120, boulevard Saint-Germain, PARIS-VI^e

o o

SECRÉTAIRE

M. G. RICHARD

105, boulevard Raspail, PARIS-VI^e

FACTEURS D'ASYMÉTRIE ET FACTEURS DE RÉGULATION DANS LA CONSTRUCTION DU DÔME CHEZ *FORMICA RUFA*. IV.

par

Rémy CHAUVIN

(Laboratoire d'Éthologie expérimentale,
Bures-sur-Yvette, Seine-et-Oise.)

Poursuivant mes recherches commencées en 1957-58, sur la construction du dôme de brindilles chez *Formica rufa*, j'ai tenté de mettre en évidence avec plus de précision que précédemment les facteurs de régulation dans la construction du dôme; j'ai trouvé trois asymétries dans la construction, alors que je n'en connaissais auparavant que deux; enfin je me suis intéressé à la remise en état globale du dôme après que l'expérimentateur lui a donné une forme arbitraire.

LE MÉCANISME DES RÉGULATIONS A LA SURFACE DU DÔME. — Comme je l'ai déjà noté, la symétrie apparente du dôme provient d'une régulation secondaire. En effet, si l'on place des cloisons assemblées en croix sur le sommet du dôme, les brindilles sont amassées en quantités inégales entre les branches de la croix. J'ai supposé alors (1959) qu'il s'agissait d'apports différents suivant la direction. Certains « chantiers » seraient plus riches en brindilles que d'autres, et le quadrant qui se trouve du côté de ces chantiers s'emplirait plus rapidement de brindilles que les autres. Mais, lorsqu'il n'y a pas de cloisons, une régulation secondaire intervient, qui supprime les irrégularités de surface. Cette régulation est prouvée par une expérience de 1958, où des cloisons formées de plaques perforées sont placées sur le dôme; alors on ne voit plus d'irrégularité des amas de brindilles entre les cloisons.

Mais cette régulation pose elle-même des problèmes. Les différences de niveau entre les brindilles sont assez minimes dans l'expérience des cloisons; dans les conditions normales, elles ne peuvent être que plus faibles encore. Comment les fourmis peuvent-elles s'apercevoir d'une si faible différence de niveau à la surface du dôme? Ou plutôt quelles sont les limites de leurs possibilités de perception et de leurs capacités de correction?

L'ENFONCEMENT DU DÔME. — J'ai décrit dans mon travail précédent l'agitation formidable qui fait suite à l'enlèvement d'une poignée de brindilles sur le dôme: la petite fosse ainsi créée est promptement comblée. Mais la perturbation est trop brutale; elle correspond à l'enlèvement de la

couche superficielle plus fine et à la mise à nu de la couche profonde formée de brindilles assez volumineuses. Il ne s'agit donc pas forcément, dans l'agitation qui s'ensuit, de la perception d'une excavation en tant que telle. Mieux vaut procéder d'une manière différente ; *enfoncer par exemple la surface* de la fourmillière de 5 mm environ à l'aide d'un objet de la grosseur du poing. Alors, l'ordonnance respective des différentes couches n'est pas dérangée. C'est ce que j'ai fait en repérant le fond de l'excavation à l'aide d'une baguette fixée de manière à l'affleurer exactement. Dans ces conditions, l'excavation, à peine visible pour nous, est comblée, et l'extrémité de la baguette disparaît sous les brindilles en quelques heures tout au plus.

Ainsi donc, la *perception des dénivellations est très fine chez les fourmis rouges*, et c'est ce qui explique la régularité de leur dôme. Mais c'est un autre problème que de débrouiller les mécanismes sensoriels en action. Je n'oserais affirmer qu'ils sont visuels, bien que les Fourmis rouges y voient assez bien ; il faudrait invoquer plutôt, semble-t-il, la sensibilité aux changements d'inclinaison du corps dans le plan de la surface du dôme. Il faut alors que cette sensibilité soit très fine. On ne dispose pas sur les fourmis d'expériences précises, mais on sait qu'en général la sensibilité à l'inclinaison du plan, qui déclenche l'ascension chez les animaux négativement géotropiques, est assez grande. Chez la Blatte germanique, que l'on dresse à parcourir un labyrinthe, j'ai montré qu'une très faible inclinaison du labyrinthe (de moins de 5°) entraîne des conséquences perceptibles (Chauvin 1947). La chenille du saturnide *Automeris illustris* est sensible à 10° avec un peu « d'entraînement » (Tabouret-Keller, 1957). La réaction est à peu près du même ordre au minimum chez *Malacosoma* et *Pyrophorus* (Crozier et coll., in von Buddenbrock). D'autre part, on a montré la sensibilité de certaines fourmis (*Myrmica ruginodis*) à la pesanteur, qu'elles peuvent même « transposer en termes d'excitation lumineuse » comme le géotrupe et l'abeille (Vowles, in Birukow, 1954). Je serais donc assez disposé à admettre que les régulations fines de la surface du nid dépendent du sens de l'équilibre et de perception des changements d'inclinaison du corps par rapport au plan de la marche.

LES DISSYMMÉTRIES DE CONSTRUCTION A LA SURFACE DE LA SOUCHE CENTRALE ET A LA SURFACE DU DÔME. — J'ai insisté (1959) sur la manière asymétrique dont se construit un nid qui apparaît à la fin comme symétrique et régulier. Mais il faut distinguer deux cas tout à fait différents :

1. Lorsqu'on dénude complètement la surface de la souche sur laquelle est habituellement bâti le dôme de *Formica rufa*, on observe, si sa surface est encore en assez bon état, une grosse asymétrie dans l'amassage des brindilles. Comme je l'ai écrit, la reconstruction commence par un certain côté de la souche qui reste toujours le même si l'on recommence l'expérience plusieurs fois. On peut même noter que ce côté est habituellement orienté au Nord-Ouest et qu'il porte des galeries qui s'enfoncent verticalement. (Je crois que le côté nord-ouest de la souche est sous nos climat

le plus humide, pourrit le premier et que les fourmis peuvent alors y pratiquer plus aisément leurs galeries.) La zone des galeries est recouverte de brindilles par priorité, ce qui forme les croissants dont j'avais parlé.

2. Mais, une fois le dôme constitué, la pose de cloisons radiaires met en évidence une inégalité d'amassage dans les différents quadrants (Chauvin, 1958-59). Si l'on enlève les cloisons, laisse s'égaliser la surface, puis les replace peu après, on constate que les quadrants d'amassage maximum peuvent très bien changer d'une expérience à l'autre. Ils n'ont aucune corrélation avec les galeries de la souche, quinze à vingt centimètres plus bas.

3. Nous verrons enfin, non plus au cours de la construction, mais de la destruction de la fourmillière, un troisième type d'asymétrie.

LES SUITES DU REMANIEMENT GLOBAL DU NID PAR L'EXPÉRIMENTATEUR. — Raignier a décrit les différentes formes qu'affecte le nid de *Formica rufa* suivant qu'il se trouve à l'ombre (dôme conique) ou au soleil (dôme aplati). Lange (1959) place des nids de *Formica rufa* et de *Formica polystena* sous une lampe infrarouge et constate des modifications du dôme suivant la position de la lampe : lorsqu'elle est proche et lui donne beaucoup de chaleur, le dôme s'aplatit ; il redevient plus ou moins hémisphérique lorsque décroît l'intensité des radiations calorifiques. A vrai dire, les différences de forme que j'ai observées entre nid à l'ombre et nid au soleil sont assez faibles et m'ont paru dépendre surtout de la taille et de la disposition de la souche centrale.

Il peut être intéressant de modifier la forme globale du nid par exemple en le façonnant en cône pointu. Dans ce cas évidemment, le remaniement est très grossier ; il n'y a plus trace de la différenciation entre couche périphérique à matériaux fins et couche profonde à brindilles plus volumineuses. L'expérimentateur se borne à ramasser à la base de la fourmillière

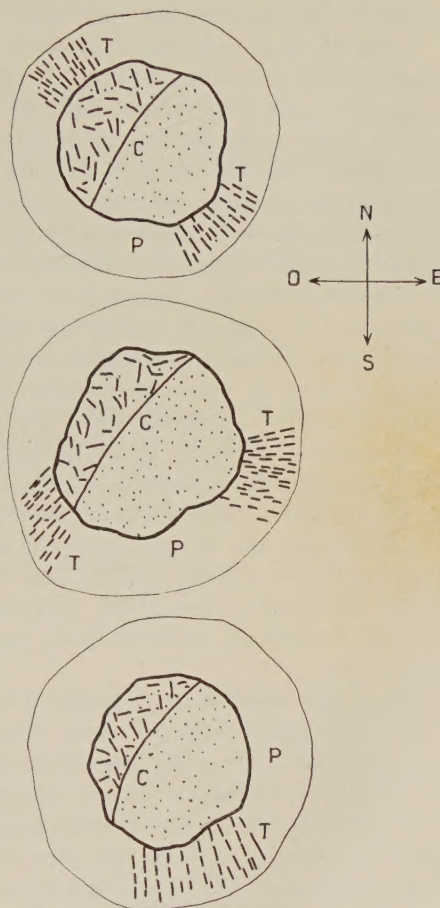


FIG. 1. — Trois nids différents représentant la souche centrale dénudée ; C : croissant de brindilles ; P : piste circulaire balayée et recouverte de papier ; T : transport de brindilles en des points déterminés de la piste circulaire.

des poignées de brindilles et à les placer au sommet. Le dôme prend alors un aspect très anormal, bien plus pointu qu'il ne l'est jamais en réalité. On repère exactement le sommet à l'aide d'une branchette plantée à l'extérieur et dont on amène l'extrémité à toucher le dôme. On entoure aussi tout l'édifice d'une aire bien balayée et recouverte de feuilles de papier, qui en cernent exactement les contours.

Comme on s'en doute, l'agitation provoquée par l'opération est intense. Les fourmis se trouvent devant un problème nouveau pour elles : non *plus l'apport, mais l'enlèvement* hors du nid d'une grande quantité de matériaux ; c'est ce qui devient nécessaire si le dôme doit être ramené à sa forme primitive. Et c'est bien ce qu'elles font sans perdre de temps ; au bout de quelques heures, les remaniements sont déjà visibles ; le sommet du dôme s'écarte de la baguette, et des matériaux sont déposés sur la bande de papier périphérique. *Mais l'on voit alors apparaître la troisième dissymétrie* à laquelle je faisais allusion plus haut : en effet, *les matériaux expulsés ou charriés (voir fig.) ne recouvrent que certaines parties du papier, toujours les mêmes* si l'on recommence l'expérience. L'aire de dépôt n'a pas de rapport avec la zone des canaux dans la souche, ni avec aucune autre particularité de la fourmillière que j'aie pu déceler jusqu'ici.

Comment s'effectue le remaniement ? De manière à faire réapparaître la forme primitive, semble-t-il. On ne peut guère apprécier avec précision ce retour à l'état antérieur, car les dômes n'ont pas des formes très définies. Toutefois, un nid de *rufa* et un nid de *polyctena*, tous deux au milieu d'une épaisse futaie et très aplatis, ont repris effectivement cette forme après avoir été modelés en cônes pointus. Deux autres dômes de *rufa*, assez élevés au départ, sont revenus aussi approximativement à leur forme primitive.

Donc les fourmis qui édifient d'habitude un nid avec apport de matériaux étrangers peuvent aussi enlever ces mêmes matériaux et revenir au plan primitif. *Elles procèdent dans leur réalisation du dôme, indifféremment par adjonction ou par enlèvement de parties.* Or cette faculté paraît fort répandue chez les insectes sociaux, et Darchen l'a mise en évidence chez les abeilles. Elle paraît plus difficile à expliquer que la construction par la théorie de la stigmergie (Grassé). Mais ce point sera discuté plus à fond à propos des abeilles chez lesquelles ces phénomènes sont plus nets et plus faciles à étudier.

Résumé.

1. Les fourmis peuvent percevoir de très légères inégalités de la surface du dôme, *même si la structure n'est pas modifiée.*
2. Lorsque la souche centrale est dénudée, elles recouvrent toujours d'abord la zone la plus friable où elles ont creusé des galeries verticales.
3. Cette zone d'amassage préférentiel n'a rien de commun avec les différences locales d'amassage que l'on met en évidence en plaçant des cloisons radiales à la surface du dôme une fois achevé.

4. Lorsqu'on donne à la fourmillière la forme d'un cône pointu en ramenant les brindilles de la base vers le sommet, les fourmis enlèvent rapidement le matériel apporté (et pourtant familier) et reviennent promptement à la forme primitive.

5. Au cours de cette opération, elles charrient toujours les brindilles éliminées du même côté de la fourmillière.

BIBLIOGRAPHIE.

1952. BUDDENBROCK (W. von). — *Vergleichende Physiologie*. I. Sinnesphysiologie (Birkhäuser, éd., Basel, 1952).
1947. CHAUVIN (R.). — Études sur le comportement de *Blattella germanica* dans divers types de labyrinthes (*Bull. Biol. Fr. Belg.*, CXXI, 93-128). — 1958-1959. La construction du dôme chez *Formica rufa*, I, II, III (*Insectes sociaux*, V et VI ; I-II, 307-41).
- DARCHEN (R.). — (En cours de publication.)
1959. GRASSE (P. P.). — La reconstruction du nid et les coordinations interindividuelles chez *Bellicositermes natalensis* et *Cubitermes*. La théorie de la stigmergie (*Insectes sociaux*, VI, 41-84).
1959. LANGE (R.). — Experimentelle Untersuchungen Ueber den Nestbau der Waldameisen. Nesthügel und Volksstärke (*Entomophaga*, IV, 45-55).
1952. RAINIER (A.). — *Vie et mœurs des fourmis* (Payot, éd., 221 pp.).
- 1956-1957. TABOURET-KELLER (A.). — L'analyse expérimentale du géotropisme de la chenille d'un Saturnide, *Automeris illustris* [*Cong. Un. Intern. Sc. Biol.* (Sect. Psychol. Expér.), 99-115].
- VOWLES. — (in Birukow, *Z. vergl. Physiol.*, 36, 176-211, 1959.)
-

MODE OF ACTION OF THE INHIBITORY SUBSTANCE OF THE HONEYBEE QUEEN

by

A. van ERP

(*Laboratory of Comparative Physiology, University of Utrecht, Holland.*)

Introduction.

Recent investigations have shown the presence of a substance on the body of a queen, called "queen substance" by Butler, which is responsible for preventing worker bees from building emergency queen cells (Butler, 1954) and inhibiting the ovary development of the worker bees (de Groot and Voogd, 1954). With respect to the mode of action of this inhibitory substance the opinions of Butler (1957, 1959) and Butler and Gibbons (1958) are contradictory to those of Voogd (1956) and Verheijen-Voogd (1956, 1959). Butler favours the idea that queen substance must be ingested by the worker bees. Verheijen-Voogd assumes that sensory perception of the substance and the subsequent behaviour of the bees are of importance. These contradictory ideas made it desirable to investigate this problem more closely. In the present experiments, both ovary development and emergency queen cell building were used as criteria.

Experiment I.

In the experiments of Butler and Gibbons (1958) queen extract was mixed with the drinking water of the worker bees, which then did not build queen cells. The conclusion was that ingestion of the substance leads to inhibition of queen cell building. Verheijen-Voogd (1959) mixed queen substance with food (sugarcandy and casein) and found inhibition of ovary development when the extract of ten queens was mixed with maximal 2.5 grammes sugarcandy, whereas ovary development occurred when queen extract was mixed with higher concentrations of sugarcandy (extract of ten queens with minimal 2.5 grammes sugarcandy), even though the quantity of queen substance taken by the worker bees was shown to be largely sufficient to inhibit ovary development when offered in the usual way, i.e. on "substitute queens". It was concluded, therefore, that simple ingestion of queen substance does not lead to inhibition of ovary development of the worker bees.

In our experiments the conditions of both Butler and Gibbons, and Verheijen-Voogd were represented by adding sugar to the drinking water which contained the queen extract.

Queen extract was obtained by extracting the bodies of dried queens with acetone in a Soxhlet apparatus during twelve hours (see Verheijen-

Voogd, 1959). This extracted material was mixed with a certain volume of distilled water after evaporation of the acetone and placed in an incubator at 30° C. for four days. The resulting aqueous extract as well as aqueous extract with sugar added in various concentrations, were offered as drinking water to groups of queenless worker bees. The concentration of the sugar in the various solutions is given as grammes per 100 ml. water. In the control experiments similar solutions with extracted material of as many worker bees were offered as drinking water. As was done by Butler and Gibbons, the building of emergency queen cells by groups of 100 worker bees, confined in experimental cages of $4 \times 12.5 \times 10$ cm (for a description see Verheijen-Voogd, 1959) and provided with drinking water and pollen candy, was used as criterion. The bees used were obtained from a normal queenright colony and distributed without anaesthesia over the experimental cages. Twelve hours after the worker bees had been confined into the cages, ten young worker larvae of one to two days old were placed in the worker cells of the comb already present in the cages. After 48 hours the number of queen cell cups with larvae, built by the worker bees was counted. Table 1 summarizes the results of these experiments.

TABLE 1.

| NUMBER OF EXPERIMENTS. | NUMBER OF QUEENS per 10 ml. water. | GRAMMES OF SUGAR per 100 ml. water. | TOTAL NUMBER OF QUEEN CELLS IN | |
|---------------------------|---|--|-----------------------------------|-----------------|
| | | | <i>Experiments</i> | <i>Controls</i> |
| 4 | 4 | 0 | — | 4 |
| 6 | 2 | 0 | 2 | 6 |
| 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 2 | 2 | 2.5 | — | 2 |
| 2 | 2 | 5 | — | 3 |
| 2 | 2 | 10 | 3 | 3 |
| 2 | 2 | 20 | 2 | 2 |

It follows from this table that emergency queen cell building occurred with higher concentrations of sugar solved in identical aqueous extracts.

These results are thus supporting those of Verheijen-Voogd, according to which worker bees do "feel" queenless when queen extract is ingested mixed with relatively high concentrations of sugar, whereas the idea of Butler and Gibbons that mere ingestion of queen substance leads to inhibition of queen cell production seems not to be justified.

In view of these results it seemed of importance to investigate whether injection of queen substance is effective. Experiments in which extract of whole queens was injected into worker bees yielded inconclusive results, perhaps owing to the simultaneous injection of extract of corpora allata and ovaries (Altmann, 1950 ; 1952). More pure extract of queen substance may possibly give conclusive results.

Experiment II.

It has been suggested by Voogd (1956) and Verheijen-Voogd (1959) that the sensory perception of queen extract and possibly the released "retinue behaviour" of the worker bees are important links in the mechanism that leads to inhibition of both ovary development and queen cell production. To check this hypothesis worker bees were enclosed with a "supersaturated" substitute queen (a piece of wood of $5 \times 12 \times 3$ mm. covered daily with a highly concentrated extract of queens), which was enclosed in a wire gauze cage of $25 \times 32 \times 13$ mm. ($1,2 \times 1,2$ mm. meshes) attached to the wall of the experimental cage. The distance between the surface of the substitute queen and the gauze was 10 mm. As worker bees have a tongue length of about 7,5 mm. they could not touch the substitute queen. Indeed, during the whole experiment worker bees were never seen licking the piece of wood. Moreover, examination of the impregnated pieces of wood at the end of the experiment showed an untouched crust of queen extract. As always some worker bees were seen examining the wire gauze cage, the substitute queen seemed to exert a strong attracting influence.

In the control experiments pieces of wood impregnated with extract of worker bees were present. Ovary development was determined according to Hess (1942), in groups of 50 worker bees, enclosed in the experimental

TABLE 2.

| EXPERIMENT. | % ovary development. | Laying worker-eggs. | CONTROL. | % ovary development. | Laying worker-eggs. |
|-------------|----------------------|---------------------|----------|----------------------|---------------------|
| a | 43 | — | a | 76 | 100 |
| b | 35 | 60 | b | 42 | 120 |
| c | 37 | — | c | 68 | 250 |
| d | 27 | — | d | 70 | 150 |
| e | 11 | — | e | 55 | 90 |
| f | 13 | — | f | 76 | 150 |

TABLE 3.

| EXPERIMENT. | Number of queen cells. | CONTROL. | Number of queen cells. |
|-------------|------------------------|----------|------------------------|
| g | — | g | 1 |
| h | — | h | 1 |
| i | — | i | 2 |
| k | — | k | 1 |
| m | — | m | 2 |

cages within 24 hours after emergence and killed when fourteen days old. Table 2 gives the results of these tests. Queen cell building was determined before. Table 3 summarizes the results of these tests.

The results show clearly the inhibitory effect of the chemoreception of a supersaturated substitute queen and are thus strongly supporting the idea of Verheijen-Voogd that the sensory perception of queen extract is a link in the mechanism that leads to inhibition of ovary development.

Discussion.

The ineffectiveness of the mere ingestion of queen substance in inhibiting ovary development is confirmed. With regard to queen cell building a similar conclusion seems to be justified.

The inhibition of ovary development and queen cell building as a result of the mere chemoreception of queen substance as demonstrated in the present paper seems to be contradictory to the general opinion that the "odour" of a queen is insufficient to inhibit worker ovary development and queen cell building. Direct contact between worker bees and the body of a queen is generally assumed to be a necessary factor. The discrepancy may be caused by the fact that we used a "supersaturated" substitute queen emanating a very high concentration of the odour of the queen substance. It might be suggested that under normal circumstances a sufficiently strong stimulation of the chemoreceptors of the worker bees by the queen substance is only achieved via direct contact between these receptors and the surface of the body of the queen.

Zusammenfassung.

Bietet man weisellosen Arbeitsbienen den Extrakt von Königinnen gelöst in ihrem Trinkwasser (Extrakt von 200 Königinnen/l), so ist er nur wirksam — im Sinne einer Hemmung der Ausbildung von Weiselwiegen — wenn das Wasser wenig oder keinen Zucker enthält. Bei höheren Zuckerkonzentrationen (über 50-100 g/l) übt der Extrakt diese Wirkung nicht mehr aus.

Weiter wurde gezeigt, dass die Anwesenheit einer mit Extrakt "übersättigten" Ersatzkönigin in einer Gruppe von im übrigen weisellosen Arbeitsbienen auch dann die Ausbildung von Weiselwiegen sowie die Ovarienentwicklung bei diesen Arbeitsbienen hemmt, wenn sie keinen direkten Kontakt mit der Ersatzkönigin hatten. Der Effekt beruht offenbar auf reiner Duftreizung durch den konzentrierten Extrakt.

Résumé.

La construction des cellules royales est inhibée lorsqu'on offre aux ouvrières d'Abeilles une solution aqueuse d'extrait de reines, ou une telle solution à laquelle on a ajouté du sucre, à la seule condition que le liquide ne contienne qu'une faible concentration de sucre. Si cette concentration est plus forte, l'extrait perd son pouvoir inhibiteur.

Un extrait de reines très concentré attire les ouvrières ; il inhibe le développement de leurs ovaires ainsi que la construction des cellules royales en dehors de tout contact direct des ouvrières avec la substance inhibitrice. Il semble, dans ce cas, que la chémoréception de la substance suffise à provoquer l'inhibition chez les ouvrières.

LITERATURE CITED

1950. ALTMANN (G.). — Ein Sexualwirkstoff bei Honigbienen (*Z. Bienenforsch.*, Heft **2**, 24-32). — 1952. Die Lokalisation der Sexualwirkstoffe bei der Honigbiene (*Z. Bienenforsch.*, Heft **7**).
1954. BUTLER (C. G.). — The method and importance of the recognition by a colony of honeybees of the presence of its queen (*Trans. roy. Ent. Soc. Lond.*, **105**, 11-29). — 1957. The control of ovary development in worker honeybees (*Apis mellifera*) (*Experientia*, **13**, 256-257).
1958. BUTLER (C. G.), GIBBONS (D. A.). — The inhibition of queen rearing by feeding queenless worker honeybees (*A. mellifera*) with an extract of "queen substance" (*J. Ins. Physiol.*, **2**, 61-64).
1959. BUTLER (C. G.). — Queen substance (*Bee World*, **40**, 269-275).
1954. GROOT (A. P. de), VOOGD (S.). — On the ovary development in queenless worker bees (*Apis mellifica* L.) (*Experientia*, **10**, 384-385).
1942. HESS (G.). — Ueber den Einfluss der Weisellosigkeit und des Fruchtbarkeitsvitamins E auf die Ovarien der Bienenarbeiterin (*Beih. Schweiz. Bienenztg.*, **1**, 33-110).
1959. VERHEIJEN-VOOGD (G.). — How worker bees perceive the presence of their queen (*Z. vergl. Physiol.*, **41**, 527-582).
1956. VOOGD (S.). — The influence of a queen on the ovary development in worker bees (*Experientia*, **12**, 199-201).
-

ERREURS D'ORIENTATION DE LA REINE ABEILLE AU RETOUR DE SON VOL NUPTIAL

par
le Docteur Maurice MATHIS
(Institut Pasteur de Tunis).

En 1952, la *Gazette apicole* publiait la traduction d'un article fort intéressant de H. Gontarski de l'Université de Francfort, sur : *Les pertes des centres d'élevage et la question de ces centres examinée d'un autre point de vue*. L'auteur y passait en revue les déboires des centres de fécondation : départ en essaim de toute la population de la ruchette avec sa reine ; disparition de la reine au cours de son vol nuptial ; erreurs de la reine qui, après son vol, pénètre dans une autre ruchette que la sienne. Notre collaborateur Breinig (à Königstein) trouva, écrit-il, dans le courant de l'été 1948, dans une colonie de fécondation, deux reines vivantes paisibles sur le petit rayon. Les deux étaient marquées de plaquettes « Staniol » et n'appartenaient ni l'une ni l'autre à la colonie en question puisque la reine appartenant à cette dernière portait une marque « Opalit ».

Intrigué par le résultat de ces observations, j'ai tenté vers fin-juillet d'étudier de plus près le phénomène de ces « erreurs de vol ». On ne saurait nullement admettre, quand on connaît le sens extraordinairement aigu de l'orientation des reines, qu'elles puissent s'égarer.

H. Gontarski marque donc un certain nombre de reines avec le plus grand soin et aboutit aux résultats suivants : Après le fécondation sur 12 reines, 3 (soit 25 %) furent retrouvées dans des colonies étrangères. Outre ceci, 4 autres reines furent perdues.

Dans une autre colonie, la reine lui appartenant fut perdue, mais à sa place se trouvait une autre reine dont la colonie était orpheline.

Chez deux autres colonies, les reines s'étaient interchangées. Ce dernier cas donne lieu, pour sa claire explication, à des difficultés particulières.

Nous n'avons pas la prétention d'expliquer ces changements de ruches, mais, comme nous avons expérimenté sur le même sujet, nous pensons utile de communiquer quelques-uns de nos résultats.

Dispositif expérimental.

Au cours des mois de mai, juin, juillet et septembre 1953 à l'Institut Pasteur de Tunis, nous avons procédé au vol nuptial de 48 reines vierges, marquées individuellement, soit avec des pastilles colorées, soit avec des numéros.

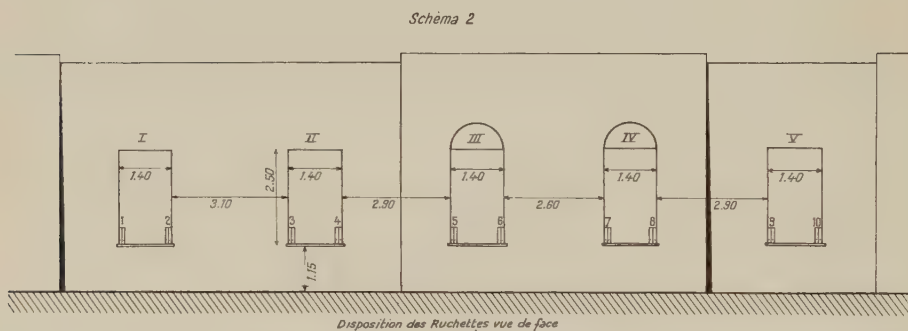
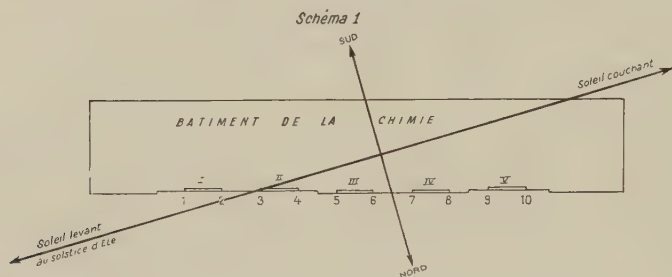
Chaque fois qu'il pouvait y avoir le moindre doute, la reine était reprise à la main et son numéro vérifié à la loupe.

Sur ces 48 reines : 7 ont été tuées par les abeilles lors de leur introduction dans la ruchette ; 7 ont disparu ; 20 ont été fécondées. La vérification de la fécondation était faite soit en suivant l'évolution de la ponte aboutissant au couvain operculé d'ouvrières, soit en disséquant la sper-

mathèque examinée au microscope écrasée entre lame et lamelle : présence ou non de spermatozoïdes mobiles.

Les dix ruchettes de fécondation constituées chacune par deux ou trois cadres de la « ruche à feuillets » de François Huber, dimensions : 24 cm de large sur 32 cm de hauteur, étaient placées entre deux vitres, recouvertes de caches opaques. L'entrée était réduite à un trou de 1 cm de diamètre; elle pouvait être instantanément obturée à volonté par un petit grillage mobile.

Dans certains cas, quand nous avions la chance de voir sortir et s'en-



voler la reine, nous prenions la précaution de fermer l'entrée pour être plus sûr de la capturer et de l'examiner avec soin lors du retour de son vol nuptial.

Nous avons eu ainsi l'occasion de chronométrer avec précision la durée du vol nuptial : quinze minutes en moyenne au lieu des trente mentionnées par François Huber lui-même en 1790.

Pendant tout le temps de ces expériences, notre rucher comprenait des colonies puissantes possédant un grand nombre de mâles.

Position des ruchettes dans notre dispositif expérimental.

Pour des raisons de commodités que l'on comprendra aisément, les dix ruchettes étaient posées contre le rebord de cinq fenêtres d'un bâtiment placé à proximité de notre laboratoire.

Nous donnons dans le schéma 1 une vue plongeante de notre emplacement et sa position par rapport au soleil. A partir de dix heures du matin, il était à l'ombre, ce qui est important pour les abeilles, mais encore plus pour l'observateur.

Dans le schéma 2, nous donnons une vue de face de la position des dix ruchettes et les distances qui les séparent les unes des autres. Ces précisions permettront peut-être de trouver une solution à ce problème difficile.

Les ruchettes sont numérotées de 1 à 10 ; sur une fiche est notée l'évolution de chacune d'entre elles.

Population des ruchettes.

Elle est constituée par les abeilles naissantes de deux cadres de couvain operculé pris dans des colonies puissantes, à l'exclusion de tout insecte adulte. Une petite coupelle de verre permet de nourrir chaque colonie à volonté, soit au sirop de sucre, soit au miel pur. Ce dernier doit être distribué avec précaution et la nuit, si l'on ne veut pas déclencher un pillage généralisé.

Les abeilles étaient libres d'aller quérir le pollen selon leurs besoins.

Reines vierges.

Obtenues dans des ruches rendues orphelines selon le procédé de SCHIRACH, les reines étaient capturées dès la sortie de leur cellule royale.

Nous avons expérimenté soit avec la race indigène locale : *Apis mellifica* var. *punica*, soit avec une souche provenant de Guinée française et rapportée à Tunis par nous-mêmes en 1949.

Les reines étaient marquées avec des numéros ou des pastilles que le professeur Karl von Frisch avait eu l'amabilité de nous donner lors de notre visite à Munich en 1952. Nous tenons à le remercier très vivement.

Introduction des reines vierges.

Nous avons essayé de multiples méthodes d'introduction de reines vierges ; aucune ne s'est montrée *infaillible*. Nous ne libérons la reine pour son vol nuptial qu'au moment où nous étions sûr de son acceptation par les ouvrières et de la liberté totale de ses mouvements.

Exemple d'une expérience.

Nous nous bornerons à une seule expérience, mais nous tenons nos cahiers à la disposition des membres du Congrès.

Ruchette n° 6. — Une reine vierge de Guinée, née le 14 juin 1953, portant sur le thorax une « pastille jaune », est introduite dans cette ruchette le 17 juin à 18 heures. Elle est un peu « houspillée » par les abeilles, mais non « emballée ». La ruchette est fermée par un petit grillage.

18 juin. — Les abeilles sont bien groupées autour de la reine, qui circule librement. Libérées à 15 heures, quelques-unes sortent et effectuent de longs vols de repérage.

19, 20, 21, 22, 23 juin. — Tout est normal. Les abeilles pompent avidement le sirop de sucre ; quelques-unes rapportent des pelotes de pollen.

24 juin. — A 11 h. 30, au cours d'un bref examen, nous voyons la reine paisible au milieu des abeilles.

26 juin. — La reine « Pastille jaune » est retrouvée à 17 heures dans la ruchette n° 4 ; elle est capturée et remise dans sa ruche.

27 juin. — Rien à signaler.

28 juin. — La reine « Pastille jaune » est retrouvée à 18 h. 45, morte, dans la ruchette n° 8. A la dissection, la spermathèque se révèle remplie de spermatozoïdes mobiles.

Cette reine s'est donc trompée deux fois au retour de son vol nuptial, dont l'un a été suivi d'accouplement réel et de fécondation.

Résultats des observations.

Nous les avons résumés sous forme de tableaux schématiques (Tabl. I à III).

CONCLUSIONS. — Les reines d'abeilles, au retour de leur vol nuptial, pénètrent souvent dans des ruchettes qui ne sont pas les leurs. Ces erreurs suivent néanmoins une loi : la reine qui se trompe pénètre toujours dans une ruchette qui est placée par rapport à la fenêtre sous le même angle que la sienne.

Il semble qu'au cours de leur repérage des lieux avant leur envol les reines situent exactement leur ruchette par rapport à une fenêtre, mais ne distinguent pas les fenêtres les unes des autres.

Discussion.

Il est bien évident que les conditions dans lesquelles nous avons opéré sont très artificielles. Jamais, dans la nature, les reines ne trouvent devant elles un paysage aussi régulier et symétrique, d'où l'importance de leurs erreurs.

TABLEAU I. — Trajectoires des reines de leur ruche vers une ruche étrangère.

Tableau I

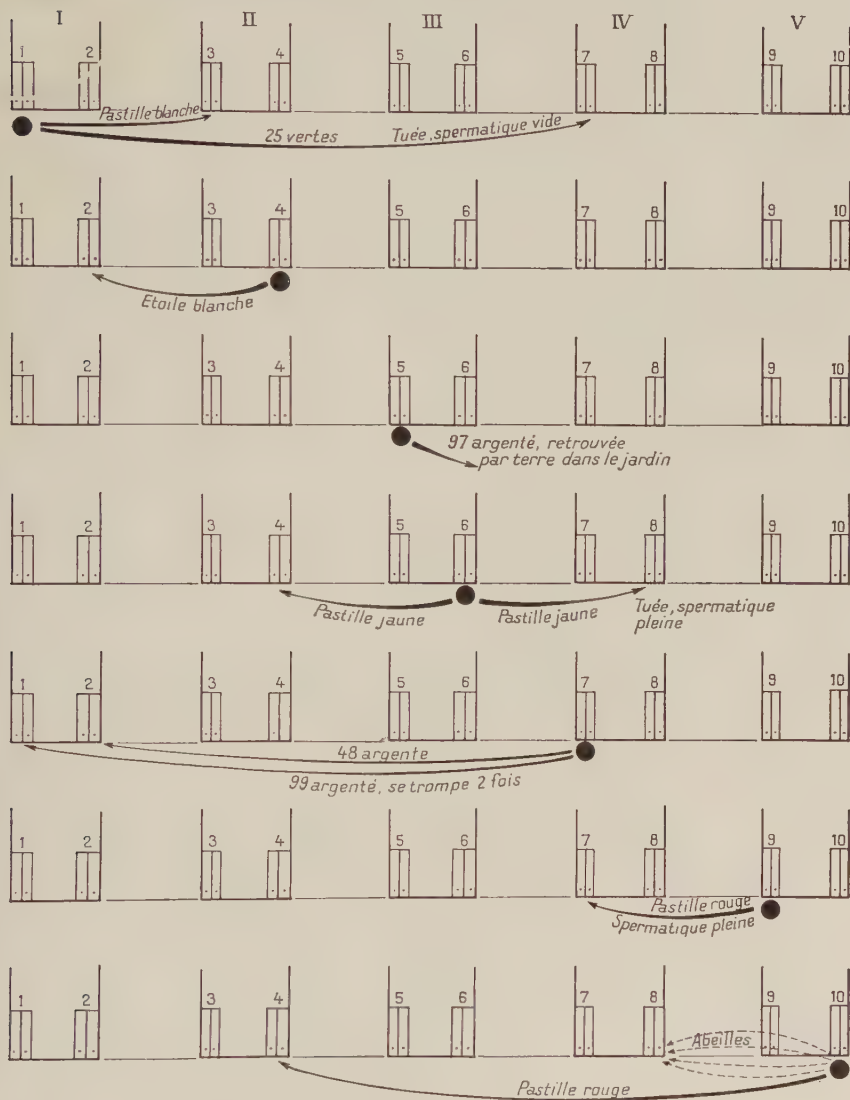
Ruchettes dont sont sorties les Reines qui n'y sont pas revenues

TABLEAU II. — Trajectoires des reines venant de différentes ruchettes et pénétrant dans celle qui n'est pas la leur.

Tableau II

Ruchettes dans lesquelles les Reines qui se sont trompées, ont pénétré.



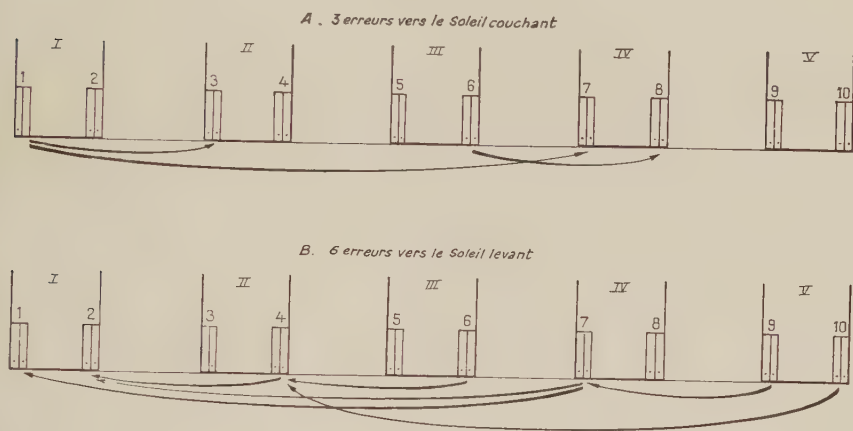
Par ailleurs, nos ruchettes étant très peu peuplées, les reines n'ont pas bénéficié au retour de leur vol nuptial du « rappel des ventileuses » et des parfums des glandes de Nassonof des ouvrières.

TABLEAU III, A. — Erreurs des trois reines qui se sont trompées dans le sens du soleil couchant.

TABLEAU III, B. — Erreurs des six reines qui se sont trompées dans le sens opposé : soleil levant.

Tableau III

Sens des erreurs



Une conclusion pratique peut être tirée de ces expériences : prohiber autant que possible la symétrie dans l'agencement des ruches d'un rucher.

BIBLIOGRAPHIE

1952. GONTARSKI (H.). —

(*La Gazette apicole*, 544, 119).

ADOPTIONS EXPÉRIMENTALES DE LARVES ENTRE
DES FOURMIS DE GENRES DIFFÉRENTS (II) :
MYRMICA LAEVINODIS NYLANDER ET
ANERGATES ATRATULUS SCHENCK

par

Luc PLATEAUX

(Laboratoire d'Évolution des Êtres organisés. — Paris)

La Fourmi sans ouvrière *Anergates atratulus*, parasite social naturel de *Tetramorium caespitum*, est un *Myrmicidæ* très atypique dont la larve hypocéphale (Emery, in Le Masne 1953) ressemble extérieurement à celle de *Tetramorium*. *Myrmica lævinodis* possède, par contre, une larve orthocéphale bien différente des précédentes.

Nous avons fait élever par des ouvrières de *Myrmica* des larves d'*Anergates* du dernier stade provenant toutes d'une colonie de *Tetramorium-Anergates* récoltée à la Station Biologique des Eyzies (Dordogne) en 1958.

Notre dispositif d'élevage est décrit dans une note précédente (Plateaux, 1960).

Les *Myrmica* adopteuses, toutes prélevées dans une même colonie des environs de Paris, formaient, en début d'expérience, des groupes d'ouvrières sans reine ni couvain (à l'exception d'un groupe qui contenait 3 larves de *Myrmica*). Au bout d'un laps de temps variable, les Fourmis se mettaient à pondre sans que cela produisit un couvain abondant : le nombre des œufs ne dépassait pas la centaine et celui des larves n'atteignait pas la dizaine. Dans certains cas, nous détruisîmes ce jeune couvain de *Myrmica*; dans d'autres cas nous le laissâmes en place. Parfois les Fourmis détruisirent elles-mêmes leur jeune couvain, en présence de larves d'*Anergates*.

Distinguons deux séries d'expériences :

1^{re} SÉRIE : Les *Myrmica* demeurèrent pendant 43 jours à la température de 9° C, puis furent placées à 20° C pour recevoir des larves d'*Anergates* et remises aussitôt au froid (3 à 9° C) ; elles y restèrent 17 jours et furent enfin soumises à la température de 22° C, le *jour zéro*.

2^e SÉRIE : Les *Myrmica* séjournèrent également à 9° C (durant 43 jours, ou 98 jours pour MA6) ; le *jour zéro*, elles furent placées à 22° C, puis elles reçurent des larves d'*Anergates* aussitôt, ou après quelques jours ; par la suite, d'autres larves ou nymphes furent ajoutées aux premières ou en furent retranchées.

1^{re} série, constituée de deux groupes :

| Nid | ouvrières de <i>Myrmica</i> | larves d' <i>Anergates</i> (n = nymphe) | Fin de l'élevage (en n ^{eme} jour) |
|-----|--------------------------------|--|--|
| MA1 | 26 | 5 (puis + 7) (1n enlevée) | 89 ^e |
| MA2 | 24 | 7 (puis + 9 + 1n) (1n enlevée) | 224 ^e |

Les larves et les ouvrières séjournèrent en commun au froid, puis furent placées à 22° C (*jour zéro*). Le 3^e jour, il restait 5 larves en MA1 et 6 en MA2 ; les ouvrières tenaient certaines de ces larves entre leurs mandibules, sans les malmenner. Le 10^e jour, il ne restait aucune larve dans les deux nids. De nouvelles larves (et une nymphe) d'*Anergates* furent alors introduites dans ces deux groupes, d'abord le 11^e jour, puis entre les 35^e et 41^e jours. MA1 reçut ainsi 7 larves, MA2 en reçut 9 (et une nymphe). Pour ces nouvelles larves, la situation était désormais la même que dans les nids de la deuxième série. L'adoption fut presque immédiate : le 17^e jour, toutes les larves étaient bien gonflées, alors que certaines avaient été introduites très maigres. La nymphe mise en MA2 s'était formée parmi des *Myrmica* (MA5) et fut acceptée sans difficulté. Le couvain d'*Anergates* évolua vers le stade adulte, en subissant quelques pertes en chemin. En MA1, sur 7 larves, 5 devinrent prénymphe, 4 nymphe, 2 adultes (nous enlevâmes une nymphe). Alors qu'il ne contenait plus qu'une larve d'*Anergates*, le groupe MA1 hiverna pendant 79 jours (129^e à 208^e) à 8° C ; à la sortie de l'hivernage, la larve se remit à grossir pour devenir bientôt nymphe (cette nymphe fut ensuite enlevée). En MA2, sur 9 larves, 4 devinrent prénymphe, puis nymphe, 2 devinrent adultes (une nymphe mourut, nous enlevâmes la 4^e).

2^e série, constituée de quatre groupes :

| Nid | ouvrières de <i>Myrmica</i> | larves d' <i>Anergates</i> (n = nymphe) | dates d'introduction (+) ou d'ablation (—) des <i>Anergates</i> (en n ^{eme} jour) | fin de l'élevage (en n ^{eme} jour) |
|-----|--------------------------------|--|--|--|
| MA3 | 20 | 6 + 2n + 5 | 0 + 53 ^e + 65 ^e | 147 ^e |
| MA4 | 20 | 6 (— 1 — 1n) | 0 (— 83 ^e) | 83 ^e |
| MA5 | 19 | 10 (— 6 — 3n) + 3 | 20 ^e (— 58 ^e) + 80 ^e | 117 ^e |
| MA6 | 101 + 3 larves | 19 + 6 + 1n + 1n | 2 ^e + 22 ^e + 52 ^e + 184 ^e | 215 ^e |

Les larves furent introduites dans des groupes d'ouvrières déjà placés à 22° C. Dès les premières heures, les *Myrmica* rassemblèrent ces larves en un point de leur nid ; au bout d'une semaine, les larves avaient reçu beaucoup de nourriture, les plus maigres ayant fortement grossi. Dès lors, le couvain d'*Anergates* poursuivit son développement avec de rares accidents.

En MA3, sur 11 larves, 9 devinrent prénymphe et 8 nymphe. Toutes les nymphe (8 élevées, 2 introduites) donnèrent des adultes. En MA4, sur 6 larves, 4 devinrent prénymphe, 2 nymphe femelles (dont une éclôt en MA4) ; une larve, la femelle éclosa et la deuxième nymphe femelle furent enlevées et données à un groupe de *Solenopsis*. En MA5, sur les 10 larves du premier lot, 6 furent enlevées, les 4 autres devinrent prénymphe puis nymphe ; l'une de ces nymphe mourut et les autres furent enlevées de MA5 (58^e jour). Dans le deuxième lot de MA1, sur 3 larves, l'une donna une prénymphe abimée, une autre forma une nymphe inachevée, la dernière se transforma en imago.

Le groupe MA6 reçut un total de 25 larves, dont 21 devinrent prénymphe et 19 nymphe ; il reçut 2 nymphe et produisit ainsi 21 imagos. Ce groupe hiverna entre les 89^e et 168^e jours, alors qu'il contenait 2 larves adoptées depuis longtemps. Après l'hivernage, ces larves, d'abord maigres, grossirent et se transformèrent en imagos. Le groupe MA6 était le seul à contenir des larves de *Myrmica* en début d'expérience. La présence de ces larves ne diminua aucunement la tolérance des Fourmis à l'égard des larves d'*Anergates* : les 19 premières larves furent acceptées d'emblée, sans perte aucune pendant plusieurs semaines ; ce n'est que plus tard, lorsque 6 autres larves d'*Anergates*

furent introduites, que certaines larves furent détruites par les ouvrières. Les 3 larves de *Myrmica*, qui étaient en MA6 dès le début, atteignirent le stade imaginal (ouvrière) en même temps que la majeure partie des *Anergates*. Pendant ce temps, les Fourmis pondaient et leurs œufs commencèrent à donner quelques jeunes larves (jusqu'à 2 ou 3) alors qu'il ne restait plus de vieille larve de *Myrmica*; mais il y avait encore 3 larves d'*Anergates*. Les jeunes larves de *Myrmica*, mêlées aux œufs, disparurent bientôt; peut-être avaient-elles servi de pâture aux larves d'*Anergates*. Ensuite, le nombre des œufs d'ouvrières resta voisin de 50 (pendant un mois) sans qu'il apparût de nouvelle larve de *Myrmica*. C'est alors qu'intervint un hivernage de 79 jours à 8° C (89° à 168° jours): les œufs de *Myrmica* disparurent, les 2 larves d'*Anergates* demeurèrent en vie. Ces dernières achevèrent leur développement lorsque le nid fut remplacé à 22° C.

Ces expériences nous montrent qu'un hivernage en commun des larves d'*Anergates* et des ouvrières de *Myrmica* (en début d'expérience) semble diminuer les chances d'adoption. Par contre, on peut faire aisément élever des larves d'*Anergates* par des *Myrmica* sans les faire hiverner avec les ouvrières de *Myrmica*. De plus, si les larves d'*Anergates* sont adoptées avant un hivernage, cet hivernage ne leur nuit pas. Enfin, nous avons vu adopter et élever des larves d'*Anergates* par des *Myrmica* qui n'avaient pas hiverné depuis 65 et même 80 jours. Il est vrai qu'il s'agissait alors d'ouvrières qui avaient été habituées aux larves d'*Anergates* depuis leur sortie d'hivernage. Bien que nous l'ayons toujours pratiqué, il n'est donc pas certain que l'hivernage des *Myrmica* avant l'expérience soit nécessaire.

Les meilleurs résultats ont été obtenus dans les groupes MA3 et MA6, tant par la proportion d'adultes obtenus que par la longévité de ces adultes.

Le couvain de *Myrmica* ne semble pas gêner l'adoption ni l'élevage de larves d'*Anergates* par des ouvrières de *Myrmica* (mais les 3 larves de *Myrmica* qui se développèrent de pair avec des *Anergates* en MA6 représentaient un bien maigre couvain pour une centaine d'ouvrières). Dans presque tous les nids, il est apparu de jeunes larves de *Myrmica* (issues d'œufs d'ouvrières) aux côtés des larves d'*Anergates*. Ces dernières ne souffrirent pas de la concurrence du jeune couvain autochtone, puisque les Fourmis en vinrent souvent à détruire elles-mêmes leur descendance et leurs œufs. Aussi le succès de l'adoption pourrait-il être indépendant de la présence de couvain de *Myrmica*. Nous n'avons fait aucune expérience en présence d'une reine de *Myrmica*.

Si l'on excepte les larves perdues (12 en tout) au début de la première série d'expériences, les résultats d'ensemble de ces élevages sont les suivants :

| | Nombre total . | Pertes en unités. | Pertes en % de chaque stade. |
|--|----------------|-------------------|------------------------------|
| Larves d' <i>Anergates</i> placées en MA | 64 | | |
| Prénymphes formées en MA | 48 | (— 16) | 25 % |
| Nymphes formées en MA | 42 | (— 6) | 12,5 % |
| Imagos formés en MA (+ 1 chez <i>Solenopsis</i>) .. | 38 | (— 4) | 9,5 % |

Total des pertes en *Anergates* non adultes : 26, soit 40,5 % du nombre total des larves.

Les pertes entre l'état de larve et celui de prénymphe (16 unités) sont de natures diverses : les *Myrmica* détruisirent 10 larves dans les premiers jours qui suivirent l'introduction de ces larves dans leur nid ; 2 larves au moins se transformèrent mal en prénymphe et périrent ; 4 larves, enfin, disparurent autrement et, parmi celles-ci, cer-

taines pourraient également avoir mal réussi leur transformation en prénymphe. Les deux causes majeures des pertes en larves semblent donc être : en début d'expérience, l'instabilité des liens d'adoption, à la fin, l'accident de métamorphose. Sur les 6 prénymphe qui se perdirent, 4 ou 5 moururent au moment de la mue nymphale, par exemple en donnant une nymphe inachevée ; ici encore, il s'agit surtout d'accidents de métamorphose. Sur les 4 nymphes perdues, 2 étaient blessées dès leur formation ; les difficultés de la métamorphose sont donc encore intervenues. De même, au moment de l'éclosion, plusieurs femelles gardèrent des ailes chiffonnées ou à peine dégagées des ptérothèques. Ces femelles vivaient 1 ou 2 jours au plus. Élevées par *Tetramorium*, 99 larves d'*Anergates* donnèrent 85 imagos.

Nous avons calculé les durées moyennes des stades prénymphe et nymphe : le stade prénymphe s'étendait sur 7 à 8 jours, le stade nymphal sur 14 à 17 jours (total 21 à 25 jours), lorsque les *Anergates* étaient élevés, à 22° C, par des *Myrmica*. La nymphe mâle, un peu plus volumineuse que la nymphe femelle, éclosait environ 2 jours plus tôt que cette dernière. Élevés par *Tetramorium*, les *Anergates* présentèrent une durée plus courte pour l'ensemble des stades prénymphe et nymphe (6 à 7 jours prénymphe, 10 à 12 jours nymphe, soit, en tout, 16 à 19 jours), mais ce résultat reste incertain car la température de 22° C fut légèrement dépassée pendant quelques jours.

De tous nos essais d'élevage de larves d'un genre de Fourmis par des ouvrières d'un autre genre, c'est celui-ci qui a, jusqu'à présent, exigé le moins de précautions et abouti à l'imago avec le moins de pertes. Par contre les imagos ainsi élevés ne jouissent pas d'une grande longévité.

La figure 1 donne un histogramme du nombre des femelles d'*Anergates* en fonction de leur longévité. On voit que le mode est une longévité de 1 à 2 jours. La longévité moyenne est de 2,7 jours à 22° C pour l'ensemble des 31 femelles écloses dans des nids de *Myrmica* (une 32^e femelle a éclos ailleurs).

Les longévités des mâles sont indiquées dans le tableau suivant (6 mâles en tout dans les 3 groupes : MA2, MA3, MA6) :

| MA2 | MA3 | MA6 |
|----------------------|------------------|------------------|
| 1 mâle : 2 à 3 jours | 1. 18 à 19 jours | 1. 13 à 14 jours |
| | 2. 29 à 30 jours | 2. 20 à 21 jours |
| | | 3. 15 à 16 jours |

Ceci nous donne une longévité moyenne de 16 à 17 jours (à 22° C).

Les femelles d'*Anergates* manifestaient très tôt une tendance à quitter le nid natal et mouraient souvent dans le tube nourricier. Elles ne recevaient guère de nourriture des *Myrmica*, qui ne réagissaient pas à leurs sollicitations, mais elles essayaient parfois de sucer elles-mêmes le miel du tube nourricier. Nous n'avons pas vu non plus de mâle recevoir de nourriture.

Les *Myrmica* retenaient souvent (et transportaient parfois) les *Anergates* avec leurs mandibules, mais ne paraissaient pas les trop malmenier bien qu'elles missent en pièces leurs cadavres.

Nous avons cherché à évaluer la longévité de quelques *Anergates* adultes élevés et hébergés par des *Tetramorium* ; nous n'avons pas trouvé de chiffres très différents des précédents. Les femelles d'*Anergates* tendaient également à quitter le nid natal. Dans ce cas, cependant, les *Anergates* recevaient des *Tetramorium* l'aliment stomodéal qu'ils sollicitaient.

Les *Anergates* que nous avons élevés présentaient un sex ratio assez particulier. Dans les élevages par *Myrmica*, nous avons obtenu 7 nymphes mâles et 35 nymphes femelles, auxquelles il faut ajouter 3 prénymphes qui donnèrent des nymphes femelles inachevées. Cela nous donne 7 mâles pour 38 femelles, soit 15,5 % de mâles et 84,5 % de femelles. Dans les élevages

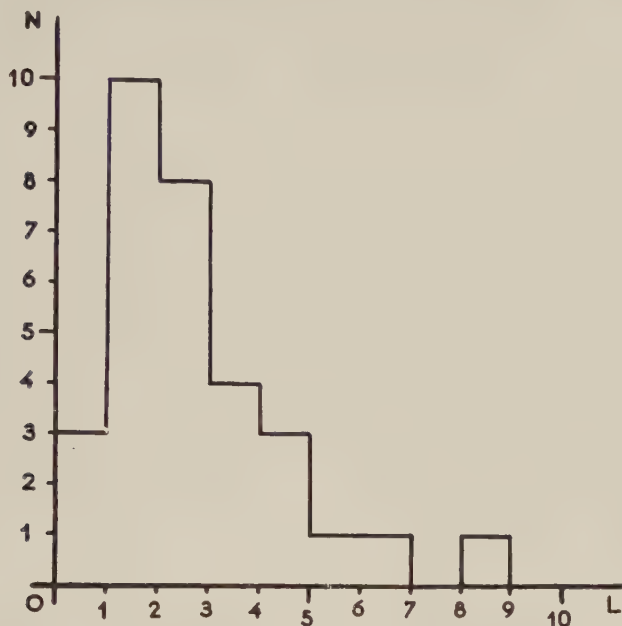


FIG. 1. — Distribution de la longévité des femelles d'*Anergates* nées dans des nids de *Myrmica*.
 Abscisse (OL) : longévité des femelles, à 22°C, en jours ; Ordonnée (ON) : nombre de femelles.

par *Tetramorium*, il éclôt 12 mâles pour 73 femelles, soit 14 % de mâles et 86 % de femelles. Beaucoup de larves d'*Anergates* furent perdues dans des expériences infructueuses, d'autres ne furent pas recensées. Nous pouvons admettre cependant que, pour l'ensemble des 200 à 300 larves récoltées, la proportion des sexes était voisine de 15 % de mâles pour 85 % de femelles (soit un mâle pour près de 6 femelles). Rappelons à ce sujet que les mâles restaient vivants dans le nid natal en moyenne 6 fois plus longtemps que les femelles.

Résumé.

Nous avons fait élever des larves d'*Anergates atratulus* par des ouvrières de *Myrmica laevinodis*, à 22° C. Pour y parvenir, il n'est pas utile de faire hiverner ensemble les larves d'*Anergates* et les ouvrières de *Myrmica*. La présence de larves autochtones n'empêche pas les *Myrmica* d'élever des larves d'*Anergates*. Dans toutes les expériences, les *Myrmica* ont été

soumises au froid *avant* de recevoir des larves d'*Anergates*. Aucune reine de *Myrmica* n'a été utilisée dans ces expériences.

Sur les 64 larves d'*Anergates* que nous avons utilisées, 38 se sont transformées en imagos. C'est au début de l'adoption et au moment des métamorphoses que périrent la plupart des 26 *Anergates* perdus. Les femelles vécurent en général 2 ou 3 jours et cherchèrent très tôt à quitter le nid natal. Les mâles vécurent 2 à 3 semaines.

Summary.

Larvae of *Anergates atratulus* were experimentally reared by workers of *Myrmica laevinodis*, at 22° C. An overwintering of both larvae of *Anergates* and workers of *Myrmica* is not necessary for the success of that experiment. The presence of larvae of *Myrmica* does not keep the *Myrmica* from rearing larvae of *Anergates*. The workers of *Myrmica* have been cooled, in all the experiments, before receiving larvae of *Anergates*. No queen of *Myrmica* have been used in that experiments.

38 of the 64 larvae of *Anergates* used became imagos. Most of the 26 lost *Anergates* died at the beginning of the adoption and during the metamorphosis. The females lived generally 2 or 3 days and tried, very early, to leave their native nest. The males lived 2 or 3 weeks.

РЕЗЮМЕ

Мы вывели личинки *Anergates atratulus* при помощи работниц *Myrmica laevinodis*, при температуре в 22 Ц. Чтобы достигнуть этого нет надобности соединять *вместе* для зимовки личинки *Anergates* с работницами *Myrmica*. Присутствие коренных личинок не мешает *Myrmica* воспитывать личинки *Anergates*. Во всех опытах *Myrmica* были подвергнуты холоду до получения личинок *Anergates*. Ни одной царицы *Myrmica* не было использовано при этих опытах.

Из 64 личинок *Anergates* которыми мы пользоваись, 38 превратились в имаго. Большинство из 26 потерянных *Anergates* погибли в начале усыновления и во время метаморфозы. Самки прожили в общем 2 или 3 дня и стремились очень рано покинуть родное гнездо. Самцы прожили от 2 до 3 недель.

AUTEURS CITÉS.

1953. LE MASNE (G.). — Observations sur les relations entre le couvain et les adultes chez les Fourmis. *Ann. Sc. nat.*, Paris, **15**, fasc. 1, 1-56.
 1960 PLATEAUX (L.). — Adoptions expérimentales de larves entre des Fourmis de genres différents: *Leptothorax nylanderi* Förster et *Solenopsis fugax* Latreille. *Ins. Soc.*, Paris, VII, fasc. 2.

FIELD EXPERIMENTS ON COLONY FOUNDATION BY
LASIUS NIGER (L.) AND *L. FLAVUS* (F.)
(HYM., FORMICIDAE)

by

A. J. PONTIN

(Bedford College, London, N.W. 1.)

It is possible to start colonies of these ants in predetermined positions as if planting seeds. Newly fertilised queens may be collected in hundreds after a mating flight and if these are enclosed in cells made from glass tubing leaving an opening too small for them to escape, but large enough for workers to pass through, their ability to found colonies may be tested under various conditions. Vanderplank (1960) has used a similar method for starting colonies of *Oecophylla*. None of the 60 *L. flavus* queens so treated died in the first year, but three out of 60 *L. niger* queens died for no apparent reason within a month of their mating flight. All the queens laid eggs 2-4 days after fertilisation and only larvae were present during the winter. When workers are reared soil is built up around their cell entrance and there is a danger of water being drawn into the entrance on cooling by rain. Death through lack of oxygen may follow even though ants are able to survive 24 hrs. of unconsciousness from this cause.

In the author's experience *L. niger* queens always attempt to found colonies alone, but *L. flavus* queens often group. For example: 6 groups of from 2-7 *L. flavus* queens were found at the Wyre Forest, Worcestershire, on 7.vii.57, but only one solitary queen, while at Cothill, Berkshire, on 19.v.57, 22 were found in one chamber with several small workers. Waloff (1957) found that groups were more successful at colony founding in the laboratory, but in the following field experiments single queens of either species were always used.

Queens of both species alight predominantly on sunlit bare areas before shedding their wings and attempting to burrow, as can readily be seen when collecting them in a garden. Table 1 shows the results of trying to collect all the *Lasius* queens from two plots — one bare earth and the other planted with *Brassica*. (χ^2 tests give a $P < 0.001$ of such a departure from equality for either species.) Success in colony foundation was therefore tested in shaded and unshaded situations. Cells containing queens were placed at the soil surface in three habitats at Wytham, Berkshire, in August 1955, and they were covered first by glass plates and then by bricks so that, on lifting the bricks, observation was possible without disturbing the surround-

TABLE 1. — THE NUMBER OF QUEENS OF «*LASius*» ALIGHTING AFTER A MATING FLIGHT AT OXFORD ON 13. IX. 56.

| | <i>L. niger</i> .. | <i>L. flavus</i> . | Total. |
|---|--------------------|--------------------|--------|
| Plot 1: 18 sq.m. bare soil | 36 | 31 | 67 |
| Plot 2: 18 sq.m. bare soil with <i>Brassica</i> 0.3 m high, 0.7 m apart | 8 | 6 | 14 |
| TOTAL | 44 | 37 | 81 |

ing soil. Table 2 shows the number of queens rearing brood to the pupal state by November 1956. The *Brachypodium pinnatum* (L.) grassland and the woodland shaded the bricks completely and, although some queens of both species survived these conditions for two years, their brood never passed the larval state. In the third habitat the brick surface received maximum insolation and most of the queens reared workers. (Using Fisher's exact method for 2×2 tables the effect of the shade on *L. niger* has a $P < 0.001$ and for *L. flavus* $P = 0.0015$.) After a sunny day the temperature was usually 5°C higher under the bricks fully exposed to the sun and this is probably the main cause of the reduction in success in shaded conditions. Brian and Brian (1951) have also found insolation to be an important factor to ant populations in Scotland.

Colonies of *L. flavus* and *L. niger* are usually found together and habitat

TABLE 2. — COMPARISON OF THE PRODUCTION OF PUPAE BY QUEENS IN THREE HABITATS IN THE YEAR FOLLOWING FERTILISATION.

| | 100 % INSOLATION | 100 % SHADE. | | TOTAL. |
|---|---------------------|--|---------------------|----------|
| | | (a) At the base of <i>Brachy- podium</i> . | (b) In woodland. | |
| Number of <i>L. niger</i> { + pupae - pupae | 26 4 | 0 8 | 0 8 | 26 20 |
| Number of <i>L. flavus</i> { + pupae - pupae | 19 11 | 0 8 | 0 8 | 19 27 |
| TOTAL | 60 | 16 | 16 | 92 |

TABLE 3. — NUMBER OF DAYS LIFE OF 24 QUEENS EXPOSED TO ATTACK IN THE UNDERGROUND TERRITORIES OF LARGE COLONIES AT WYTHAM, BERKSHIRE, IN 1956.

| | | COLONIES: | | | | | |
|---------|-------------------|-------------------|----|----|------------------|----|----|
| | | <i>L. flavus.</i> | | | <i>L. niger.</i> | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| QUEENS: | <i>L. flavus.</i> | 6 | 28 | 12 | 22 | 58 | 5 |
| | | 28 | 32 | 17 | 22 | 91 | 15 |
| | <i>L. niger.</i> | 32 | 58 | 18 | 6 | 22 | 5 |
| | | 58 | 77 | 25 | 8 | 28 | 9 |

selection by the queens accounts for the origin of this co-existence. The interaction between large colonies of these species has been investigated and is being published elsewhere (Pontin, in press) and the interaction between foundress queens and large colonies has been investigated by the method described here. Table 3 shows the length of life of queens placed in the underground foraging areas of three large colonies of each species and covered as before. Colonies killed queens of their own species first (analysis of variance: $P<0.001$) and this would favour co-existence of the two species. Possibly the repugnant odours of the queens were more effective in repelling the opposite species of worker since ants must have some tolerance of their own discharges. The two species certainly smell very differently to human observers—*L. flavus* is much more sour and slightly like oil of lemon in smell. O'Rourke (1950) states that formic acid is produced by both species, but even *L. niger* does not smell quite like pure formic acid. The smell appears as soon as individuals exude droplets from their posterior ends and it appears unlikely that the difference is due to secretions from other parts of the body.

The work was done in the Hope Department of Entomology at Oxford while in receipt of a Nature Conservancy research studentship and I wish to thank Professor G.C. Varley for his useful criticism and Mr.J.F. Scott for his advice on statistical methods.

Summary.

Queens of *Lasius flavus* (F.) and *L. niger* (L.) were observed to choose sunlit bare areas for colony foundation and shading was found to reduce their success in founding colonies. Large colonies of these species killed queens of the opposite species first thus favouring the co-existence brought about by their habitat selection.

REFERENCES

1951. BRIAN (M. V.), BRIAN (A. D.). — Insolation and ant population in the west of Scotland (*Trans. R. ent. Soc. Lond.*, **102**, 303-330).
1950. O'ROURKE (F. J.). — Formic acid production among the Formicidae (*Ann. ent. Soc. Amer.*, **43**, 437-443).
1960. VANDERPLANK (F. L.). — The bionomics and ecology of the red tree ant, *Oecophylla* sp., and its relationship to the coconut bug *Pseudotheraptus wayi* Brown (Coreidae) (*J. Anim. Ecol.*, **29**, 15-33).
1957. WALOFF (N.). — The effect of the number of queens of the ant *Lasius flavus* (Fab.) (Hym., Formicidae) on their survival and on the rate of development of the first brood (*Insectes sociaux*, **4**, 391-408).
-

ETHOLOGICAL PECULIARITIES OF THE PRIMITIVE
SOCIAL BEES,
ALLODAPE LEPELTIER AND ALLIED GENERA (1)

by
SHÔICHI F. SAKAGAMI
(Zoological Institute, Hokkaido University.)

*Dedicated to Prof. KUNIO IWATA
The Pioneer of Insect Ethology in Japan.*

It is unanimously admitted that complicated social patterns in insects occur in four groups; termites, ants, wasps and bees. The degree of group differentiation in social evolution varies considerably among these groups. In the first two groups mentioned, all recent genera involved are more or less social except for some, which secondarily transformed to social parasites, and the differentiation of social patterns often attained an admirable complexity. In the wasps or Vespoidea, however, the ratio of social genera to the whole group is relatively small and the social patterns remain still incipient even in the socially most advanced genera. Finally, the bees or Apoidea offer the most interesting instance. The social general are small in number compared to the enormous group size. But genera cover an extreme social diversity, from a truly solitary state to a highly developed pattern.

The emergence of complicated social patterns among bees is hitherto recognized in three independent subfamilies: Halictinæ (of Family Halictidae), Apinæ and Xylocopinæ (of Family Apidae in the definition of Michener, 1944). In Halictinæ, most species are solitary, and the social patterns are still primitive, at most comparable to that in bumblebees, even in a few social species. The uniqueness of this subfamily is the occurrence of both strictly solitary and fairly social species side by side within one and the same genus, or even subgenus (Noll, 1931; Michener, 1958; Plateaux-Quénu, 1959). The Apinæ includes the socially most advanced and most well known groups such as bumblebees, stingless bees and honeybees. In the two last mentioned groups, the social patterns are comparable or even exceed, especially in the differentiation of queens, those expressed by higher termites and ants. In the last subfamily, Xylocopinæ, the trend to sociality is represented by *Allodape* and its Australian relative, *Exoneura*. Their social pattern is still primitive, but remarkable in certain aspects, some of which were recently discussed by Michener (1958) from a new point of view.

(1) Contribution No. 506 from the Zoological Institute, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

In the course of the writer's taxonomic study of some Oriental bees collected by the Osaka City University Expedition to Southeast Asia (1957-58), he had an opportunity to examine some adult and larval specimens of one *Allodape* species, together with field notes made by Dr. Kimio Yoshikawa, a member to the Expedition. The effort to incorporate these results in a report (Sakagami and Yoshikawa, in press) stimulated him to pursue the previous information concerning the ethology of this genus, in which he had felt a deep interest. The present paper is an outcome of this bibliographical survey and an extension of the work by Brauns (1926), who already attempted to classify some African species observed him into ethological groups.

Recently Prof. Ch. D. Michener of the University of Kansas made an extensive field survey concerning the Australian species of *Allodape* and *Exoneura*. His still unpublished result contains so many new discoveries that some parts of the present paper may thoroughly revised by himself in future. But he kindly read through the manuscript of this paper and encouraged the writer to publish it as a basis for further work and a summary of the present knowledge. The writer would like to express his cordial thanks to Prof. Michener for his encouragement and certain suggestions. He also wishes to acknowledge with thanks to Prof. Kunio Iwata (Sasayama) and Dr. Kimio Yoshikawa (Osaka), who kindly gave him an opportunity to prepare the present paper. He is also indebted to Dr. Karl V. Krombein (Washington, D.C.), Dr. Chihisa Watanabe (Sapporo) and Mr. Yoshiaki Itô (Tokyo) for the loan of some papers, which were otherwise inaccessible to him. Finally his sincere gratitude is due to Prof. Tohru Uchida, under whose direction the present work was carried out.

Remarks on some specific names cited.

In some species cited in the present paper, the scientific names adopted differ from those given in the papers in which the ethological accounts were described. These are summarized here as follows:

1. *Allodape panurginoides* Smith (= *A. ceratinoides* Gribodo).

Allodape ceratinoides, Brauns, 1926, p. 420 (Biology) and p. 431 (Taxonomy).

2. *Allodape pringlei* Cameron.

Allodape pringlei, Brauns, 1926, p. 421.

The correct name of the species observed by Brauns is still unsettled. Here his name has tentatively been accepted (Cf. Cockerell, 1934).

3. *Allodape paradoxa* Friese.

Allodape paradoxa (Brauns in lit.) Friese 1924, p. 79.

Allodape paradoxa Brauns 1926, p. 433 (described as a new species, with brief ethological note).

4. *Allodape elizabethana* Friese.

Allodape elizabethana (Brauns in lit.) Friese, 1924, p. 81.

Allodape elizabethana Brauns, 1926, p. 424 (a brief ethological note).

5. *Allodape sauteriella* Cockerell.

Allodape marginata, Iwata 1938 nec Smith, p. 373 (Biology); Yasumatsu, 1938, p. 380 Larva).

Ethological characters common to Allodape=Exoneura Complex.

So far as the available information goes, the ethological characters common to all species observed are as follows: 1. Nests are generally made by

burrowing in the pithy cores of dead twigs. The labour is often reduced by adopting ready-made hollow twigs. Examples of such will be given later, together with some exceptional nest site preference.

2. Cell partitions are completely omitted; all immature stages are found together within a common nest cavity. This is the most important and universal character so far known of the Complex. The entrances are constricted in most cases by means of adhering masticated piths. 3. Larvae are more or less aberrant as compared to those of other bee genera, either in the possession of fleshy appendage-like protuberances or of a deformed head capsule. Pupae do not spin cocoons. 4. Except for one instance, the larvae are fed more or less progressively. 5. After emergence, the daughter bees remain together with the mother in the same nest burrow for a considerable time.

These peculiarities are most vividly expressed in the illustration given by Iwata (1938), which is reproduced in Fig. 1, for his original paper written in Japanese has been little noticed up to the present.

Provisional distinction of Ethogroups.

While the Complex is more or less uniform in the ethological characters given above, there seem to occur a

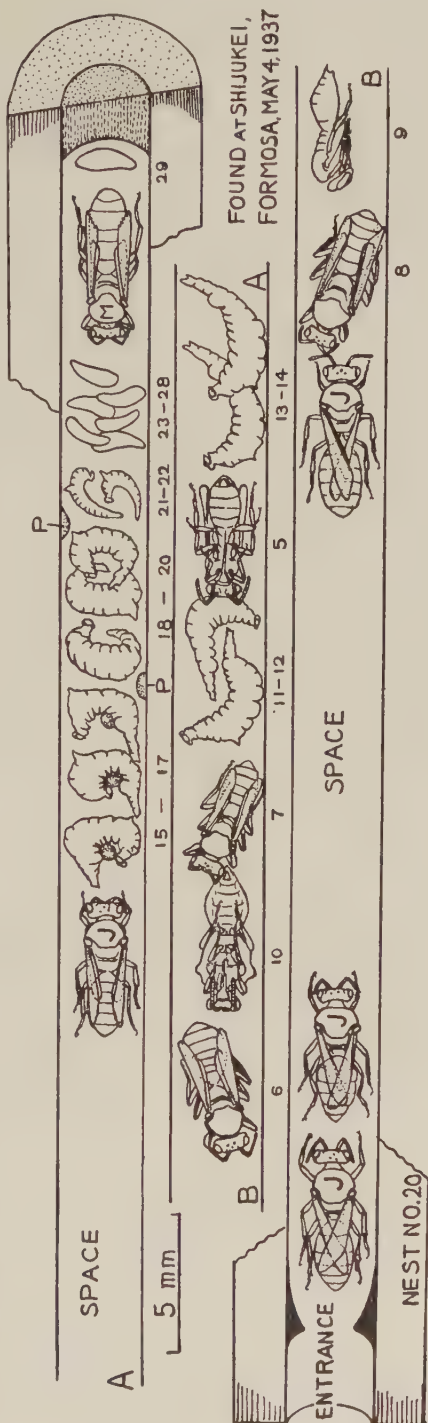


FIG. 1. — A populous nest of *Allodape sauteriella* Cockerell (After Iwata, 1938; by his permission).

M: mother, J: juvenile daughters, 5-29: the order of development, P: pollen heap.

number of remarkable differences among species observed. However, except for the oviposition type and larval morphology, most such differences have not been accurately described as *distinctive* characters. Therefore, a provisional distinction of ethogroups will be given below mainly based upon the two characters mentioned. It might be still premature to clearly define such groups from the present scanty knowledge. But the following distinction may indicate the important characters to be noted in future studies.

ETHOGROUP I. — Corresponding to Type III of Brauns (1926) based upon a single species observed by him. Unfortunately, this species was not accurately identified, and has never been rediscovered. According to him eggs are enormously large, "being almost equal to $1/3$ of the mother's own bulk: After oviposition, the mother brings enough food to last for the larvae until it reaches the pupal stage." Larvae are also less differentiated, with "only two comparatively small and inconspicuous fleshy protuberances, the anterior larger than the posterior, are to be seen on each side." The oldest youngs are at the bottom of the burrow while the younger ones are nearer to the entrance, that is, the brood is arranged in an ascending order from the entrance to the bottom of burrow as in other bee genera utilizing similar cavities.

Except for the omission of cell partitions, and judging from the original description, the provisioning *after* oviposition, this group does not essentially differ from other mass-provisioning solitary bees and indubitably represents the most primitive social pattern in the Complex.

ETHOGROUP II. — This group involves, for the time being, only two Oriental species, *Allodape sauteriella* Cockerell (Iwata, 1938; Yasumatsu, 1938) and *A. iwatai* Sakagami and Yoshikawa (Sakagami and Yoshikawa, 1961), but may cover some other allied Oriental species, of which habits are still unknown. Eggs are enormous (Fig. 1), and laid at the bottom of the burrow in a mass, not adhering to the walls of the burrow. Occasionally a small heap of pollen is seen adhering to the walls of the burrow (Fig. 1), perhaps as temporary storage. But there is no food store in the proper sense. In *A. sauteriella*, older larvae were observed occasionally holding a minute pollen mass on the ventral surface. The brood is arranged in the descending order: The pupae and oldest larvae nearest to the entrance, intermediate ones next, and the youngest larvae and eggs always at the bottom. In *A. sauteriella* this arrangement is immediately re-established when artificially disturbed.

Larvae are characterized by deformed, laterally projected head capsule with numerous curled bristles. With respect to the development of fleshy protuberances, both species are less differentiated than other ethogroups described below. *A. sauteriella* possesses a dorsal and a ventral tubercle each on thoracic segment III and abdominal segment VI, but ventro-lateral protuberances are virtually absent, represented by mere ventro-

lateral swellings on thoracic segments and abdominal segments I-V. *A. iwatai* is devoid of both tubercles, and the ventrolateral surfaces are smoother. Therefore, the larvae differ from both Groups III and IV, although seemingly nearer to III by the possession of a ventral tubercle in *A. sauteriella*, and by the bristled head capsule.

ETHOGROUP III. — Corresponding to Type I of Brauns (1926). He indicated that nearly all large (African) species, in fact the great majority of South African species, belong to this section and have larvae of the type described below. Unfortunately, he did not mention the names of the species observed by him other than *A. panurginoides* Smith. Perhaps *A. hirsuta* Brauns may belong here, for he said that the nests of this species were observed by him. *A. angulata* Brauns and *A. abdominalis* Friese are also included in this group (Skaife, 1953).

Provisioning, oviposition and arrangement of brood are as in Ethogroup II. The adjustment of larval arrangement after artificial disturbance was also recorded in *A. angulata*. According to Skaife, the youngest larvae of *A. angulata* (and perhaps *A. abdominalis* Friese, although specifically not mentioned) are fed colourless liquid, and the defecation commences in both species before attaining maturity.

Judging from the figures given by Brauns and Skaife, the heads of the larvae are rather broad and bristled but less conspicuously so than in Group II. On the other hand, ventrolateral protuberances are much developed. Especially 2-3 thoracic pairs are conspicuous and one pair is transformed into long "arms" to hold the food mass. Dorsal tubercles are conspicuous. The ventral tubercle on abdominal segment VI is also far larger than in Group II.

The larva of *A. strandi* Masi offers a further problem to be solved. In general body shape, with elongated tail, and in the possession of thoracic "arms", this species belongs to Ethogroup III, as already suggested in the original description (Masi, 1930: "Appartiene al primo tipo di Brauns"). However, it stands rather nearer to Ethogroup IV than the typical representatives of III in the less developed thoracic arms, the relatively well developed abdominal ventrolateral protuberances, and the lack of a ventral tubercle on abdominal segment VI (One dorsal tubercle in abdominal segment I). On the other hand, the head capsule differs distinctly from IV, and is rather similar to that of Ethogroup II in the lateral projection with curled bristles. Unfortunately, no observation was undertaken as to the oviposition type of this species (Paoli, 1930).

ETHOGROUP IV. — Corresponding to Type II of Brauns and represented by *A. pringlei* Cameron (Brauns, 1926) and *A. halictoides* Skaife (Skaife, 1953). Some other species observed by Brauns may belong here, but he did not mention their names. At least it is plausible that *A. elizabethana* Friese and *A. paradoxa* Friese are placed here, for Brauns' note suggests that he observed the nests of these species, which are taxonomically near to *A. pringlei*.

The eggs are small, slender, and laid in a regular spiral (*pringlei*) or

circular (*halictoides*) line, adhering to the walls of the burrow. The hatched larvae "remain in this position, radiating from the wall of tube for some days." In both species, well developed larvae receive a common food mass. "The mother deposits the food in the space left between the heads of the larvae (which are all in the same level), so that they can all fed at the same time from the same food supply" (Brauns).

The larvae possess rather normal heads, without developed thoracic protuberances, nor ventral tubercle, but with "four rows of small fleshy protuberances along the ventral surface" (Skaife). The well grown larvae maintain their position "by pressing these protuberances against the rugosities of the walls (of nest burrow) and also against the bodies of their neighbours" (Brauns). In *A. halictoides*, "well grown larvae completely block the tube, therefore there cannot be more than one layer of them, for any larvae behind would be starved because the females could not get at them," but "they are full grown in 7-8 weeks and the females then pull them apart and arrange them in a row along the tube." On the other hand, in *A. pringlei* "the pupae and larvae after the last casting of skin are found near the entrance, and the agglomeration of larvae still feeding are below them, nearer to the bottom." Therefore, the arrangement of brood seems to be a modified descending order, not typical as in Ethogroups II and III, and the rearing of brood rather discontinuous in contrast to the two groups described above. In *A. halictoides*, Skaife observed the defecation only after reaching maturity. In both species observed, the larvae lack the dorsal tubercle.

ETHOGROUP V. — This group was formed for some species of *Exoneura*, in which eggs are laid in a loose mass at the bottom of nest burrow, as in Ethogroups II and III, and in which the larvae have numerous pairs of more or less developed ventrolateral protuberances, the thoracic pairs often elongate and multidenticulate.

The distinction of Ethogroup III and V is still an open question; each is represented by a different genus. In all descriptions and drawings of larvae so far given by Rayment (1949, *a*, *b*, 1951) and Erickson and Rayment (1951), the ventral tubercle is not touched on. But it is uncertain whether this can serve as a distinctive character, for the ventral tubercle may be either present or absent within the group (Cf. Ethogroup II). Judging from the descriptions, the possession of a more or less developed cephalic protuberances seems to be another character common to all *Exoneura* (Ethogroups V and VI inclusive). Among numerous species of which habits were briefly touched on by Rayment, the oviposition in a loose mass was definitely stated only in the following species: *E. fultoni* Cockerell (Rayment, 1949 *a*), *E. angophorae* Cockerell, *E. angulata* Rayment, *E. asimillima* Rayment, *E. richardsoni* Rayment (Rayment, 1951) and *E. illustris* Rayment (Erickson and Rayment, 1951). The larvae of these species are provided with, perhaps except for *fultoni*, more than one pair of well developed, often multidenticulate thoracic protuberances, and,

seemingly, more (*angulata*, *richardsoni*, *illustris*) or less (*asimillima*, *angophorae*) developed ventral appendages (1).

The occurrence of long, bi-, tri- or even tetradactylous thoracic protuberances appear to be a remarkable feature in this group. The development of abdominal protuberances seems to vary among species.

ETHOGROUP VI. — Erickson and Rayment (1951) stated with respect to the *Exoneura* species of Western Australia: "The eggs are usually deposited in lines, but in certain species laid just criss-cross, loose, in the base of the lumen. The group provides a few pollen grains among the larvae." But the oviposition in a line, as in Ethogroup IV, was so far definitively recorded only for two species, *E. rufitarsis* Rayment and *E. roddiana* Rayment. For these species Ethogroup VI is erected here. It is certain that some other species referred to by Erickson and Rayment belong to this ethogroup but there is no indication of particular specific names. Both species mentioned above are characterized by the possession of only one pair of unbranched thoracic protuberances, without further thoracic or abdominal protuberances. The larvae of *E. frogatti* Cockerell and *E. fultoni* Cockerell seem to belong this group (Rayment, 1949 a). But the oviposition type of the former species is not mentioned, while of the latter is as in Ethogroup V. Therefore, the Groups V and VI may be redefined, when the ethology of *E. fultoni* has been accurately described.

Relationship between ethogroups and taxonomic groups.

The distinction of above mentioned ethogroups was made without special reference to the taxonomic grouping based upon the adult external characters. The *Allodape*-Complex is a quite large group, indubitably involving a large number of still undescribed species. Moreover, the number of ethologically studied species is only a fraction of all species so far described. In such circumstances, the attempt to trace the relation between taxonomic and ethological groups inevitably must remain a provisional sketch.

The *Allodape*-Complex possesses a Palaeotropic distribution pattern, that is, it is found in the regions surrounding the Indian Ocean. Friese first considered that it originated from the continent now submerged under the Indian Ocean (1909), later from Australia (1924). All species involved possess only two submarginal cells, a characteristic found in other xylocopine bees only in a few carpenter bees of the subgenus *Cyaneoderes* Ashmead. Up to the present six genera or subgenera have been erected which are separated from one another by Table 1 and Fig. 2. Among

(1) Rayment wrote that the abdominal protuberances are inconspicuous in *E. oblitterata*, *E. illustris*, *E. elongata*. But his term "inconspicuous" seems to be used in comparison with the conspicuous thoracic appendages, rather than in the sense of interspecific comparison. In the figures of these three species, he illustrated the protuberances, which are distinct in comparison with those in Ethogroups II, III, and VI (Cf. his own figure of *E. rufitarsis*).

TABLE 1. DISTINCTION OF GENERA OR SUBGENERA IN *Allopade*-Complex.

| | <i>Allo- dapula</i> Cockerell (1934). | <i>Allopape- leptier</i> (1825). | <i>Macro- galea</i> Cockerell (1930). | <i>Exoneura</i> Smith (1854). | <i>Exoneu- ridia</i> Cockerell (1911). | <i>Eucondy- lops</i> Brauns (1902). |
|--|--|---|---|-------------------------------------|--|---|
| Vein 2m-cu present (+) or obsolete (—) | + | + | + | — | — | — |
| Pterostigma normal (+) or obsolete (—) | + | + | — | + | + | + |
| Maxillary palpi 6- (+) or 3- (—) seg- mented | + | + | — | + | + | + |
| Body glabrous, face with aberrant pro- cess, otherwise ab- errant (—) or nor- mal in these cha- racters | + | + | + | + | + | — |
| Face marks of fe- male "III" shap- ed (—) or single, "I" or "T" shap- ed (+) | + | — | + | + or — | + | without mark |
| Trochanter III of male normal (+) or dentate (—) .. | — | +* | ** | + | ** | ** |
| Distribution | Africa, Oriental, & Aus- tralian Region. | Africa. | Africa. | Australia. | Lebanon. | South Africa. |

* Except *A. rufipennis* Cockerell (1936), which possesses two dentiform projections on male trochanter III.
 ** Male unknown.

them, *Exoneuridia* was erected for the reception of a single species, *Exoneura libanensis* Friese 1899 from Lebanon. Cockerell (1911) referred to its differences from *Exoneura bicolor* Smith, the type species of the genus *Exoneura*. But his brief description is insufficient to clearly separate the genera, especially after the later discoveries of many more species of *Exoneura* from Australia.

The relative antiquity of these groups is still an open question until a closer comparative study is carried out. But except for the face marks, the characters given in the Table with + may be regarded as more primitive than their alternatives marked with — (partly cf. Michener, 1944).

The reduction of vein 2m-cu may have evolved independently in the three groups, *Exoneura*, *Exoneuridia*, and *Eucondylops*. Similarly, the fused maxillary palpi and reduced pterostigma of *Macrogalea*, a small genus including *M. candida* Smith, *M. mombasae* Cockerell and, according to Cockerell (1934), another species from Madagascar, suggest the secondary derivation of this genus. Consequently, it is plausible that the four groups mentioned were evolved independently from the *Allodape-Allodapula* like ancestral stock. With respect to the relation between *Allodape* (s. str.) and *Allodapula*, the dentate trochanters III of males may be more differentiated than the normal ones. On the other hand, the difference in the face marks, either single or three banded, cannot serve as a good phyletic cue, for both patterns are commonly seen in other xylocopine bees. But the three banded type is represented by *Allodape* (s. str.) and some *Exoneura* alone, while the single banded type is more widely distributed. From this fact and the differentiated male trochanters, it is more plausible that *Allodape* (s. str.) is a derivative from the *Allodapula* type than the reversed relation. Therefore, all representative groups of the Complex are, seemingly, derivatives from the *Allodapula*-like ancestral stock.

How do the ethological findings relate to the hypothetical phyletic trend outlined above? There are still no ethological observations on the species of *Macrogalea* and *Exoneuridia*. *Eucondylops* was erected for the reception of a singular species, *E. konowi* Brauns from South Africa, a social parasite of the *Allodape* (s. lat.) species (1). Its secondary evolution from the non parasitic host group is rather obvious as in other cuckoo bees (Grütte, 1935). This species was so far recorded from the nests of *A. elizabethana*, *A. paradoxa* and *A. hirsuta* (Brauns, 1926), the former two species belonging to *Allodapula*, while the last to *Allodape* (s. str.). Therefore, the derivation of *Eucondylops* from either *Allodapula* or *Allodape* (s. str.) is still an open question.

All ethological observation so far carried out were based upon species belonging to the other three groups, *Allodape* (s. str.), *Allodapula* and *Exoneura*. Comparison of the taxonomic and ethological findings suggests, besides a few correspondences, remarkable differences between them as follows:

1. As far as the African species are concerned, *Allodape* (s. str.) corresponds to Ethogroup III (Type I of Brauns), and *Allodapula* to IV (Type II of Brauns). This is obvious because Cockerell (1934) separated *Allodapula* from *Allodape* partly upon the observations by Brauns.

2. Nevertheless, this correspondence seems to be not strictly valid even within Africa, for the larvae of *A. strandi*, a distinct *Allodapula* in the adult characters, are rather closer to those of Ethogroup III than of IV.

3. In two Oriental *Allodapula* species, *A. sauteriella* and *A. iwatai* (Ethogroup II), the oviposition type decidedly accords to that of African

(1) Michener discovered a parasitic species of *Allodapula*, and a parasitic genus or subgenus of *Exoneura* in his recent survey made in Australia (personal communication to the writer).

Allodape (Ethgroup III) instead of *Allodapula* (Ethgroup IV). Their larvae differ from those of both III and IV, but are nearer to III.

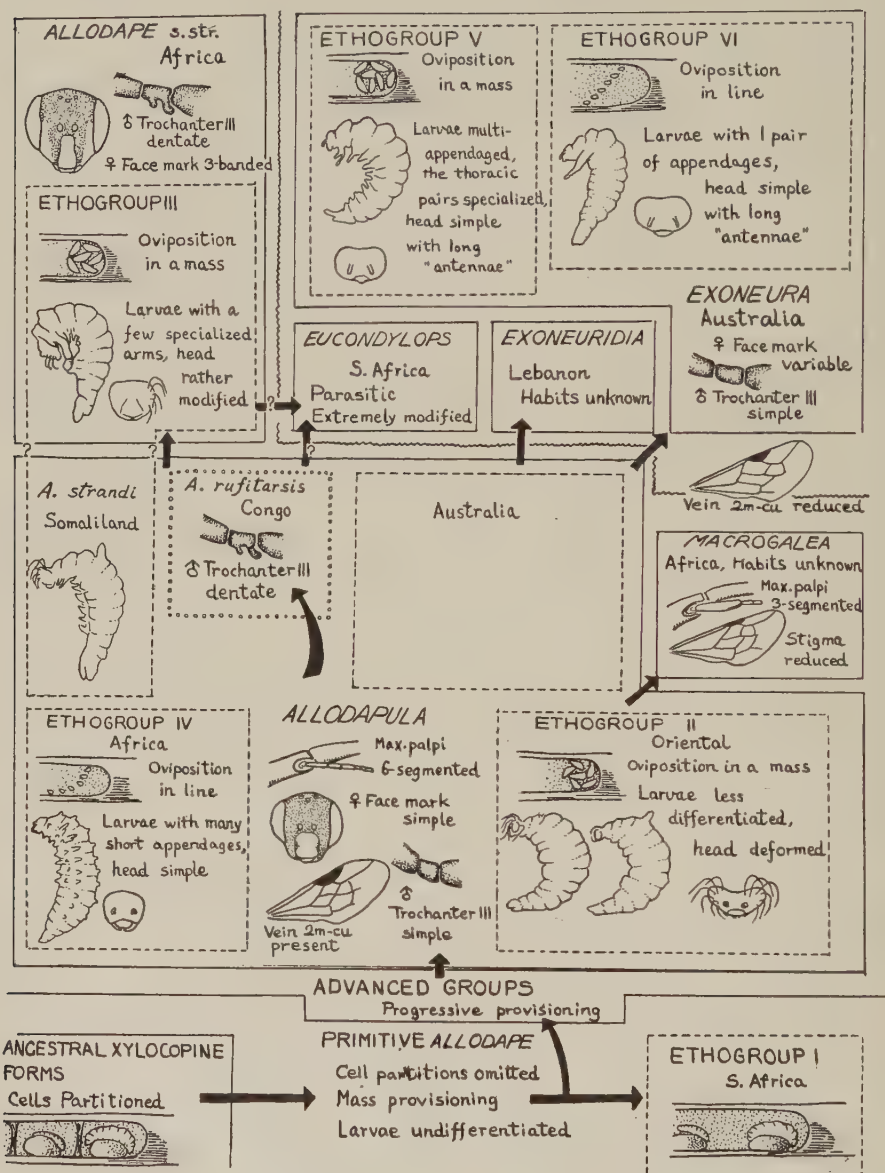


FIG. 2. — Provisional phylogram of the *Allodape* Complex.

Solid frame: taxonomic groups; Broken-lined frames: Ethogroups; Arrows: Hypothetical evolutive courses.

4. In the species of *Exoneura* ethologically observed, both oviposition types found in *Allodape*-*Allodapula* seem to have evolved independently.

The most interesting fact is the appearance of the reversed combinations of oviposition types and larval types between *Exoneura* and *Allodapula*. In Africa, the oviposition in a mass is seen in the species with relatively few, but well developed appendage-like protuberances, while the oviposition in a line in those with "polypodous" larvae. This relation is reverse in *Exoneura*, as far as the observations by Rayment and his collaborator go.

From these facts, it may be suggested that similar oviposition types or larval types appeared independently in different ethogroups. Moreover, there is a distinct adaptive correlation between oviposition and larval types in African *Allodapula*, or Ethogroup IV, but such is seemingly absent in *Exoneura* with similar oviposition type, or Ethogroup VI. This indicates the appearance of the ethological characters (larval types inclusive) among groups in different combinations.

Indubitably Ethogroup I represent the most primitive step in both oviposition and larval types. But the relative antiquity of ethological characters in the other groups is difficult to judge. The two oviposition types, oviposition in a mass and that in a line, are fairly well differentiated patterns in themselves, and it cannot be assumed that one is the derivative form of the other. Even if considered from their adaptive values, though very dangerous in view of the scanty knowledge, the supposed higher adaptive value in Ethogroup IV by the communal provisioning may be counteracted by the inhibition of the rearing of further brood caused by the blocking of the nest burrow by the older larvae. As to the larval types, the most differentiated forms may be those found in some *Exoneura* belonging to Ethogroup V. But the larvae of all groups are more or less differentiated. The larvae of Ethogroup II are rather primitive in the less developed appendage-like protuberances, but fairly well differentiated in the head capsule. Consequently, the relative antiquity of ethological groups as well characters cannot be estimate until further ethological links are discovered, or the more detailed studies confirm the occurrence of phyletic cues in the finer ethological peculiarities.

The ancestral nature of the *Allodapula* type was assumed above from the adult external morphology. The ethological findings give neither positive nor negative evidence but show the heterogeneous nature of this group. *Allodapula* was first separated by Cockerell (1934) as follows:

The second type of larvae, having a number of fleshy contractile appendages on the segment, is typified by what Brauns called *A. pringlei* Cam. (*pungens* Brauns). The females of this group have a different face-pattern, usually with a T-like mark, or a broad band, or a more or less hour-glass like mark, on the clypeus, while the hind trochanters are simple in the males. This is the group of *A. variegata* Smith, which certainly deserves to rank as a subgenus, and perhaps as a genus. I propose for it the name *Allodapula*, type *variegata*. To this group belong the Asiatic and Australian species, as well as very numerous species of Africa.

Later he raised *Allodapula* to the generic rank as follows (1936):

This group not only differs considerably in appearance from true *Allodape*, but the larvae and mode of life are different, as Brauns explained. I now propose to regard *Allodapula* as a genus. It has been stated that the simple hind trochanters of the males distinguish *Allodapula* from *Allodape*. This is generally true, but they are dentate in *A. rufipennis*, which is certainly a good *Allodapula*. *Allodapula* has lateral fleshy protuberances in the larva, quite wanting in *Allodape*. Brauns figures an *Allodape* larva with a dorsal protuberance, but this is not a true generic character, as it occurs also in *Allodapula strandi* (Masi).

As already criticized by Arnold (1947), Cockerell's statement is not always clear. He raised *Allodapula* to generic rank, nevertheless he found that the dentate male trochanters are not a group character. Moreover, he regarded the larvae of *A. strandi* as belonging to Type II of Brauns (Ethgroup IV), despite the original figure which clearly shows the resemblance to those of Type I of Brauns (Ethgroup III) as was stated by Masi. The heterogeneity of the group becomes even more distinct when two Oriental species are considered: the oviposition type and larval characters of the two species studied deviate distinctly from the African *Allodapula* as already mentioned. If the larval characters are to be adopted as important criteria, a new generic name should be given to the Oriental species, and probably to *A. strandi*, too. To the present writer, *Allodapula* seems to be a compound group containing several subgroups, which, although still without marked differentiation in the adult morphology, represent different ethogroups. Further comparative studies, either morphological or ethological, is necessary to establish the phyletic relations within the Complex (1). The discussions so far given are summarized in Fig. 2 as a hypothetical phylogram.

Further ethological peculiarities in the Complex.

Beside those peculiarities given above, there are found several interesting ethological features. For the lack of detailed comparative data, these cannot be accurately incorporated among the distinctions given above. Some of them may be the characters common to the Complex, while the others may be characteristic to certain ethogroups only. Some of them are of paramount importance to the social evolution of the Complex, or even of the bees in general, as discussed subsequently.

1^o FEEDING OF LARVAE WITH GLANDULAR SECRETION. — Rayment repeatedly mentioned that the young larvae of *Exoneura* were fed with the secretions from mother's pharyngeal glands (Rayment, 1951, 1954, 1958; Erickson and Rayment, 1951). Skaife (1953) also observed in *A. angulata* and *A. halictoides*: "the newly hatched larvae are fed by the mother on a colourless liquid food that she regurgitates." On the other hand, Brauns

(1) Another type of African *Allodape* (s. lat.) larvae was noted by Friese (1914). This species, though not accurately identified, seems to have a larval type different from both Ethgroups III and IV, suggesting the probable occurrence of further larval types.

(1926) wrote as to *A. pringlei* "The larvae are not fed directly nor by regurgitation, but they are fitted with integumentary organs for holding the food near the buccal part..." However, it is uncertain whether or not the youngest larvae of this species, received glandular secretions. He mentioned nothing as to the feeding in Type I (Ethogroup III). No observation was undertaken as to the Oriental species.

Further there are some uncertain descriptions by Rayment as follows: "*Exoneura asimillima* deposits the eggs first, in a mass at the base of the chamber, and later provides a supply of rather dry mealy pollen in the interstices about the eggs." "In certain of the red-bodies species, such as *Ex. angophoræ* Cockerell, the eggs may be deposited criss-cross in a mass at the base of the chamber, on a communal store of crumbly pollen....," finally as to *Ex. richardsoni*: "The eggs were deposited criss-cross without order, at the base of the chamber, among the communal food. All the larvae feed from the common store until they are well developed.... The youngest larvae are, of course, progressively fed with a secretion from the pharyngeal gland."

Throughout these descriptions, "the common store" may correspond to the common food-mass given at the same time, described in *A. pringlei* and *A. halictoides*. But the descriptions by Rayment give the impression that the food storage occurs before or soon after oviposition.

2° DIRECT FOOD TRANSFER BY REGURGITATION. — One of the characteristic, but relatively less mentioned features in the social bees is the weak development of the direct food transfer by regurgitation. The occurrence of trophallaxis between larvae and adults is impossible in Halictinæ, Meliponini, and Bombini by the lack of the direct contacts between them, and decidedly rejected in the honeybees through the direct observation by Lindauer (1952). The trophallaxis among adults is extensive in the honeybees and stingless bees, but extremely rare in the bumblebees under natural condition (Jordan, 1936; Cf. also Brian, 1954, Free, 1955) and, in all probability, absent in Halictinæ (Michener, 1958; Sakagami, unpubl.). Therefore it is remarkable that the direct food transfer was proved in *Exoneura* by Rayment (1951):

The females (of *Ex. rufitarsis*) were observed to apply the mouth to the head of larvae, and it was possible to see the transfer of a clear liquid, probably food. The "champing" and "mouthing" of larvae indicate that they are requiring food. . . The female bends the slender glossa back under the head, and opening wide her mandibles, takes the tip of the larval head right in between her open jaws, which do not move. A clear liquid is then exuded onto the larval mouth for a second or two. This is undoubtedly a copious secretion of the pharyngeal glands, and the larva injects it with a conspicuous mouthing of the lips. Another adult female will sometimes "kiss" the larva after its feeding as though it were wiping the solid mouth of the infant.

Rayment (1951) also repeatedly mentioned that thoracic protuberances of *Exoneura* functioned as exudatoria. He cited the observations by Rodd, who noticed in *Ex. richardsoni* and *Ex. angulata* the larvae sucking

the appendages, and illustrated the lumen penetrating the appendages of *richardsoni* (1). Moreover, he observed a female licking the thoracic appendages of larvae in *Ex. rufitarsis*. This behaviour resembles somewhat that found in food begging larvae and offering adults of social wasps. No comparable observation was recorded in the Afro-Oriental species. Skaife (1953) wrote as to *A. angulata*: "The mother regurgitates on to the abdominal surface of the larva, where it clings as a clear drop just below its mouth. Thus the larva has only to bend its head slightly to reach the food and suck it up." Judging from this observation, the feeding habit seems to be different among certain groups within the *Allodape*-Complex. Further comparative studies are necessary to clarify this most interesting and important feature.

Further, Rayment (1951) observed a female of *Ex. rufitarsis* feeding to an adult male, and illustrated two females during kissing action (His Pl. XXVII, Fig. 2), and one female "wiping the mouth" of another nurse bee after the latter had fed a larva (His Pl. XXVII, Fig. 3), which suggest a rudimentary food regurgitation between adults.

These peculiarities in *Exoneura* were already noticed by Michener (1958), who thought that the *Allodape*-Complex developed their social pattern through a *subsocial* route involving trophallaxis, as in other social insects excluding bees, whereas other social bees evolved through a way called *semisocial*, which does not involve the trophallaxis as the essential motive. In this connection, it is interesting that the food transmission between adults was observed in *Xylocopa virginica* (Linné) by Rau (1933). This indicates the *subsocial* steps as the characteristic of Xylocopinæ in general (2).

3^o DEFECATION DURING FEEDING PERIOD. — In many bees including social forms, the boundary between mesenteron and proctodeum of the larvae does not open until the cessation of the feeding period, so that the feces are excreted in a mass after completing the growth. Therefore, it is noteworthy that some species of *Allodape* and *Exoneura* defecate during the feeding period. Already Friese (1914) suggested the occurrence of such earlier defecation in *Allodape* from the observations of Brauns, although Brauns himself did not publish this definitely. Rayment (1951) wrote: "It was of interest to discover that larvae (the species name was not definitely given, but perhaps *Ex. roddiana* Rayment, judging from the original text), feeding on a pollen-ball supplied by the author, showed a black mass, at the caudal end about 24th October, and in a day or two, a cylindrical pellet of excreta was voided. The junction of the proctodeum and the mesenteron must occur much earlier than in the hive bees, and while the larval feeding is drawing to a close." Skaife (1953) definitely

(1) After Michener (person. comm.), however, this finding is doubtful and requires further critical observation.

(2) However, it must be mentioned that there is an objection to the importance of the trophallaxis even in the social insects other than bees, for instance, in a social wasp, *Vespa sylvestris* Scopoli (Brian & Brian, 1952).

stated the defecation during feeding in *A. angulata* and *A. abdominalis*, while, after feeding in *A. halictoides*. There is no observation as to the Oriental species, but in examining the larvae of *A. sauteriella* and *A. iwatai*, the present writer found a penultimate instar larva without fecal accumulation in the intestine and a final instar larva with fecal accumulation. Hence, it is probable that in these species the intestine is opened during the later feeding period. Perhaps, this feature may provide character to distinguish ethogroups.

Early defecation occurs also in *Xylocopa* (*X. valga* Gerstäcker, Malyshev, 1931; *X. caffra* Linné, Skaife, 1952; *X. virginica* (Linné), Rau, 1933), *Ceratina* and in most megachilids bees (*Megachile*, *Chelostoma*, *Osmia*, etc. after Michener, person. comm.).

4° OMISSION OF CELL PARTITIONS. — This character is common throughout the Complex, and distinguishes this Complex from all other bee genera except for bumblebees. But it is interesting to cite here the observations by Iwata (1938) on two Formosan species of *Ceratina*, the closest relative of *Allodape* - Complex. In the nests of *Ceratina unicolor* Friese and *C. hieroglyphica* Smith (*sic*), he found the cell-partitions only when the cells contain very young larvae. Moreover, in the latter species, he found in one nest an irregular developmental gradient within the burrow, which cannot appropriately explain without postulating the transport of larvae by the mother. These observations indicate a dawn of the common chamber in this genus, which is already fixed in *Allodape* - Complex. According to Ohgushi (1954) the omission of cell-partitions is a rule in certain hunting wasps of *Sphex*, *Crabro* and *Stigmus*. He also found the facultative omission in *Pemphredon lethifer fabricii* Müller.

5° LABOUR ECONOMY IN EXCAVATION. — Although the excavation in pithy cores of dead plants is the essential nesting habit of the Complex, the economy of labour through the use of hollowed twigs (Iwata, 1938; Rayment, 1951) or ready-made burrows of other insects (Iwata, 1933, *Ceratina*, eumenid wasps; Brauns, 1926, *Ceratina*, diplopterous wasps) has been repeatedly described. The use of galleries made by Coleoptera in logs or poles is also known (Brauns, 1926) and this habit seems to be fixed in *Ex. bicincta* Rayment, which regularly used the evacuated galleries of longicorn beetles (Rayment, 1954). A more curious instance was recorded by Rayment (1951), who cited the use of the cavity of the galls made by a buprestid beetle on *Pultenæa* by *Exoneura concinnula* Cockerell. The nests of *A. strandi* were discovered in the empty cavities of the swollen spines of *Acacia fistula* (Paoli, 1930). Brauns (1926) reported exceptional nidification in the gounds (in the river banks or even in the walls of houses) in *A. pringlei*, when the available twigs are scarce.

In the carpenter bees, too, the use of ready-made hollows as the fixed habit is known in the species of the subgenus *Biluna* Maa, or the bamboo bees, which use bamboo hollows instead of wood (Iwata, 1938).

6° DISPOSITION OF GUARD BEES. — The nest entrances are narrowed by means of masticated pith (Iwata, 1938; Rayment, 1951; Sakagami and Yoshikawa, in press; not mentioned by Brauns, 1926; Skaife, 1953), even in *Ex. bicincta*, utilizing the evacuated galleries of longicorn beetles (Rayment, 1954). At the entrance, the mother bee sits directing their abdomen outwardly (Skaife; Brauns; Rayment, 1951; Erickson and Rayment, 1951; Sakagami and Yoshikawa) and lock, if necessary, the entrance by the dorsal surface of the apical abdominal segments. This method of locking is seen also in some other bees such as *Xylocopa* and Halictianæ. In the *Allodape* Complex, however, there seems to appear a morphological correspondence. The flat dorsal surface of apical tergites is characteristic of the Complex, which might represent the incipient stage of phragmosis (Wheeler, 1927). Furthermore, Skaife noted that *A. angulata* readily used the sting, if disturbed, and it is quite painful, more so than that of much larger carpenter bees. Here it may be suggested that the stings of Hymenoptera show two diametrically opposed evolutionary paths among forms having complicated social patterns, the remarkable development giving a painful result on one hand (*Apis*, *Bombus*, Vespidae), and the complete functional reduction replaced by other defensive mechanisms (Many ants, Meliponini) (Cf. Sakagami and Akahira, 1960). Brauns is also of the opinion that the sting of *Allodape* is painful (After Friese, 1924).

7° POLYGYNIAL ASSOCIATIONS. — The polygynial associations found in Xylocopinæ can be divided into three classes: 1. Association of juvenile daughter bees before nidification, 2. Co-existence of two or more females with developed ovaries during nesting season, 3. Co-existence of mother and their daughters.

The first class is common to all members of the subfamily and related to the hibernation in the adult stage and resulting prolongation of juvenile stage, both also characteristic of the subfamily. It is known that both male and female bees remain in a common shelter. In *Allodape*, some species appear to be found gregariously in a common hibernacula (Skaife, 1953, *A. halictoides*).

After hibernation, the females with developed ovaries depart the mother's nest and independently found their own nests, leaving the mother's nest to one sister. This solitary nidification is a general rule in the subfamily. But occasional polygynial nest establishment is reported in *Xylocopa caffra* Linné (Skaife, 1952). In *Allodape* and *Exoneura*, this seems to be a rather common trait. Skaife mentioned the communal nesting of 2-3 females in *A. angulata*, and *A. halictoides*. Rayment (1951) recorded a nest of *Ex. rufitarsis* containing 6 females. Erickson and Rayment found in the spring nests of *Ex. illustris* Rayment with 1-4 females. These females may be the sisters from the same mother, but the invasion of other females may not always be impossible. A more remarkable case is cited in the next section.

The co-existence of mother and daughters is one of the most important

steps in the evolution of social insects. This condition is also common in Xylocopinæ (*Xylocopa*, Malyshev, 1931; Rau, 1933; *Ceratina*, Iwata, 1938, Rau, 1933), and is rather a rule in the *Allodape* - Complex. Skaife wrote, as to *A. angulata*, that the mother often deposits a second batch of eggs after the emergence of the first daughters, who rear their younger sisters after the death of the mother. There is no reference whether or not such *experienced* daughters can found their own nest in the next year, but this is probable. There is still no positive evidence, whether or not the newly emerged daughters assist the mother before the death of the latter for the maintenance of the common nest (1).

8° HETEROSPECIFIC COMPANIONSHIP? — The females of nesting Hymenoptera are usually repulsive one another not only interspecifically but also among the conspecific members (Cf. Sakagami, 1959). Therefore, the following accounts given by Rayment (1949, *b*) are remarkable and require further critical studies:

It is now definitely established, as a results of Rodd's work, that the females of *Exoneura* will tolerate—perhaps invite and enjoy—the company of females of other species, even though brood in all stages be present.

And he recorded a nest in the stem of *Lantana*, in which two *Ex. excavata* Cockerell, two *Ex. montana* Rayment and one female of a smaller species, *Ex. sub-holmesii* Rayment were discovered. He also stated as to the nests of *Ex. asimillima* Rayment as follows (1951):

Several of the older larvae from the Grampion had individual puddings, but as there is definitely some cooperation with females of other species, these may have been the progeny of an alien mother, or the habit may vary. Because the social habit is developing in the *Exoneurae*, the mother of one species will feed secretion to the progeny of other females, and this complicates the investigations, and at times one is not entirely satisfied that all the larvae present in a populous nest are of one species.

The provisioning to the neighbour nests was observed in a dense nest aggregation of a hunting wasp, *Cerceris harmandi* Pérez (Tsuneki, 1947). But the above citation indicates the feeding by alien species, which has so far been recorded, under natural condition, only in the species living in the social parasitic associations (Various instances are listed in Sakagami and Fukushima, 1957). As the enmity among hetero-colonial individuals, not to speak to heterospecific ones, is generally higher in advanced social patterns, the above mentioned observations are remarkable and need further studies.

(1) However, this seems to be probable in the recent study by Michener. Moreover, he found excellent evidence of the worker-like function of some females of some species of *Exoneura* (the workers do not mate) (Personal communication).

Summary.

The bee genus *Allodape* Lepeletier and its allies occupy an interesting position in the social evolution. The present paper deals with; 1. Enumeration of ethological characters common to the *Allodape*-Complex, 2. Tentative distinction of certain ethological groups within the Complex, 3. Assumptions on the evolutionary trends within the Complex, and, 4. Discussions as to some ethological features, which are remarkable and require further studies.

Zusammenfassung.

Die Bienengattung *Allodape* Lepeltier und ihre Verwandten nehmen eine interessante Zwischenstelle in der sozialen Evolution ein. In der vorliegenden Arbeit wurden gegeben: 1. Aufzählung der ethologischen Eigenschaften, die zur Gehörigen des Komplexes gemeinsam sind, 2. Vorläufige Einordnung gewisser ethologischer Gruppen innerhalb des Komplexes, 3. Einige Annahmen über die evolutiven Tendenzen innerhalb des Komplexes, und 4. Erörterungen über gewisse bemerkenswerte, weitere Studien erfordernde ethologische Eigenschaften.

REFERENCES

1947. ARNOLD (G.). — A key to the African genera of the Apidae (*J. entom. Soc. S. Africa*, **15**, 63-76).
1902. BRAUNS (H.). — *Eucondylops*, n. g. Apidarum (Hym.) (*Zs. Hym. Dipt.*, **2**, 377-380). — 1926. A contribution to the knowledge of the genus *Allopape* St. Farg. & Serv. (*Ann. S. Afr. Mus.*, **13**, 417-434).
1954. BRIAN (A. D.). — The foraging of bumblebees (*Bee World*, **35**, 61-67, 81-91).
1952. BRIAN (M. V.) and BRIAN (A. D.). — The wasp, *Vespula sylvestris* Scopoli: Feeding, foraging and colony development (*Tr. Roy. entom. Soc.*, London, **103**, 1-26).
1911. COCKERELL (T. D. A.). — Descriptions and records of bees, XXXIV [*Ann. Mag. Nat. Hist.* (8), **7**, 225-236]. — 1930. A new African genus of Ceratinidae (*Rev. Zool. Bot. Africaines*, **18**, 291-293). — 1934. Some new or little known South African bees of the genus *Allodape* in the British Museum [*Ann. Mag. Nat. Hist.* (10), **14**, 220-242]. — 1936. African bees of the genus *Allodapula* (*Amer. Mus. Novit.*, No. 840, 28 pp.).
1951. ERICKSON (R.), RAYMENT (T.). — Simple social bees of Western Australia (*West. Austr. Nat.*, **3**, 45-59).
1955. FREE (J. B.). — The behaviour of egg-laying workers of bumblebee colonies (*Brit. J. Anim. Behav.*, **3**, 147-153).
1899. FRIESE (H.). — Die Bienengattung *Exoneura* Smith. (*Entom. Nachr.*, **25**, 209-211). — 1909. Die Bienen Afrikas, nach dem Stande unserer heutigen Kenntnisse. *Schulzes Forschungsreise in Südafrika*, 2, I, X, 3 ser. (*Jena. Denkschr.*, **14**, 475 p.). — 1914. Bienen mit Pseudopodien und neue Arten der Gattung *Allodape* (Hym.) (*Deutsch. entom. Zs.*, 144-150). — 1924. Ueber die Arten der Bienengattung *Allodape* in Afrika (*Ibid.*, 65-81).
1935. GRÜTTE (E.). — Zur Abstammung der Kukucksbienen (Hym., Apid.) (*Arch. Naturgesch.*, N. F., **4**, 449-534).

1938. IWATA (K.). — Habits of some bees in Formosa, II (*Xylocopa*) (*Tr. Nat. Hist. Soc. Formosa*, **28**, 205-215). — III (*Ceratina*) (*Ibid.*, 257-262). — IV (*Allodape*) (*Ibid.*, 373-379). All written in Japanese.
1936. JORDAN (R.). — Beobachtungen der Arbeitsteilung im Hummelstaate (*Bombus muscorum*) (*Arch. Bienenkd.*, **17**, 81-91).
1952. LINDAUER (M.). — Ein Beitrag zur Arbeitsteilung im Bienenstaat (*Zs. vergl. Physiol.*, **34**, 299-345).
1931. MALYSHEV (S. J.). — Lebensgeschichte der Holzbienen, *Xylocopa* Latr. (*Zs. Morph. Oekol. Tiere*, **23**, 754-809).
1930. MASI (L.). — Descrizione di un'*Allodape* vivente nelle spine di un'acacia nella Somalia italiana (*Mem. Soc. entom. Ital.*, **9**, 67-75).
1944. MICHENER (C. D.). — Comparative external morphology, phylogeny, and a classification of the bees (Hymenoptera) (*Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.*, **82**, 157-325). — 1953. Comparative morphological and systematic studies of bee larvae with a key to the families of hymenopterous larvae (*Univ. Kansas Sci. Bull.*, **35**, 987-1102). — 1958. The evolution of social behaviour in bees (*Proc. 10. Intern. Congr. Entom. Montréal*, **2**, 441-447).
1931. NOLL (J.). — Untersuchungen über die Zeugung und Staatenbildung des *Halictus malachurus* Kirby (*Zs. Morph. Oekol. Tiere*, **23**, 285-367).
1954. OHGUSHI (R.). — On the plasticity of the nesting habit of a hunting wasp, *Pemphredon lethifer fabricii* Müller (*Mem. Coll. Sci., Univ. Kyoto*, B, **21**, 45-47).
1930. PAOLI (G.). — Contributo allo studio dei rapporti fra le acacie e le formiche (*Mem. Soc. entom. Italiana*, **9**, 131-195).
1959. PLATEAUX-QUÉNU (C.). — Un nouveau type de société d'insectes : *Halictus marginatus* Brullé (Hym., Apoidea) (*Ann. biol.*, **35**, 327-444).
1933. RAU (P.). — *Jungle bees and wasps of Barro Colorado Island*, St. Louis.
1949. RAYMENT (T.). — a. New bees and wasps. VIII. A new species of *Exoneura*, with notes on other reed bees from Grampians (*Victoria. Nat.*, **65**, 208-212). — b. New bees and wasps. IX. Four undescribed species of *Exoneura*, with notes on their collection, and description of new parasites discovered on the genus (*Ibid.*, 247-254). — 1951. Biology of the reed bees, with descriptions of three new species and two allotypes of *Exoneura* (*Austr. Zool.*, **11**, 285-313). — 1954. New bees and wasps. XXII. The altruistic reed bees. *Exoneura* (*Victoria. Nat.*, **71**, 13-16). — 1958. Evolution of royal jelly (*Proc. Zool. Soc. N. S. W.*, 1955-56, 78-79).
1959. SAKAGAMI (SH. F.). — Some interspecific relations between Japanese and European honeybees. Studies on the Japanese honeybee, VI (*J. anim. Ecol.*, **28**, 51-68).
1960. SAKAGAMI (SH. F.), AKAHIRA (Y.). — Studies on the Japanese honeybee, VIII. Two opposing adaptations in the post-stinging behavior of honeybees (*Evolution*, **14**, 29-40).
1957. SAKAGAMI (SH. F.), FUKUSHIMA (K.). — *Vespa dybowskii* André as a facultative temporary social parasite (*Insectes Sociaux*, **4**, 1-12).
1961. SAKAGAMI (SH. F.), YOSHIKAWA (K.). — Bees of Xylocopinae and Apinae collected by the Osaka City University Biological Expedition to Southeast Asia, with some biological notes. (*Nature and Life in SE. Asia* 1).
1952. SKAIFE (S. H.). — The yellow-banded carpenter bee, *Mesotrichia caffra* Lin., and its symbiotic mite, *Dinogamasus braunsi* Vitzthum (*J. entom. Soc. S. Africa*, **15**, 63-76). — 1953. Subsocial bees of the genus *Allodape* Lep. & Serv. (*Ibid.*, **16**, 3-16).
1854. SMITH (F.). — *Catalogue of hymenopterous insects in the collection of the British Museum*. Pt. II. Apidae, London.
1947. TSUNEKI (K.). — On the primitive sociality found in a dense nest population of *Cerceris harmandi* Pérez (*Kagaku*, **17**, 119-120, written in Japanese).
1927. WHEELER (W. M.). — The physiognomy of insects (*Quart. Rev. Biol.*, **2**, 1-36).
1938. YASUMATSU (K.). — On the larva of *Allodape marginata* Smith (*Tr. Nat. Hist. Soc. Formosa*, **28**, 380-381 Written in Japanese).

THE INITIATION OF FUNGUS COMB CONSTRUCTION IN LABORATORY COLONIES OF *ANCISTROTERMES GUINEENSIS* (SILVESTRI)

by

W. A. SANDS, M. Sc.

(Colonial Termite Research Unit, Commonwealth Institute of Entomology, British Museum
(Natural History), London.)

Termites of the subfamily Macrotermitinae have always proved difficult to rear under laboratory conditions and incipient colonies developing from a pair of dealated imagos have rarely survived more than a few months. Some observers have recorded young colonies beginning to construct fungus comb, but few of these were under conditions which permitted easy observation.

The colonies described here had survived for approximately six months (up to the conclusion of the experiment). The work was carried out at the Regional Research Station of the Northern Nigerian Ministry of Agriculture at Samaru, near Zaria.

Material.

Ancistrotermes guineensis (Silvestri) is not uncommon in Northern Nigeria, but is less frequently met with than its common congener *A. crucifer* (Sjöst.), possibly due to more cryptic foraging habits, since it frequently occurred in sampling pits in the guinean savannah woodland on red lateritic soils. It builds no mound or other visible evidence of its presence except occasional mud runways,

Methods.

The young colonies were reared in observation nests of a similar type to those described by Lüscher (1949 and 1951) and Williams (1959), consisting of two plates of window glass 6 inches by 4 inches, separated by two half-inch wide strips of glass to provide a chamber only slightly deeper than the bodies of the imagos. The upper glass plate was cut into three pieces 2 inches by 4 inches to facilitate removal for cleaning. The space between the plates was filled with sifted soil which was not otherwise modified either by sterilisation or addition of material. The soil was a slightly humic brown, loamy sand. At one end of each plate a small tunnel was made with a mounted needle to encourage the dealate imagos to enter in a central position to facilitate future observation.

Alates were collected at light. After they had shed their wings they readily entered the prepared tunnels, which they enlarged to form small chambers approximately 2 cm. in diameter. (Plate I, fig. 1).

The shape and size of the plates permitted regular examination under a binocular microscope. The space between the glass was narrow enough to prevent the termites covering it with mud, thus allowing observation and photo-micrography at all times. The plates were kept in a glass desiccator chamber over standing water, and the soil was also moistened from time to time, as seen to be necessary. The temperature was that of the laboratory and fluctuated between 70° F and 80° F during most of the experiment. Under these conditions the termites produced eggs and young in due course.

Results.

| | Days |
|--|-------|
| Pairing off and construction of chamber..... | 0 |
| First eggs deposited | 3-4 |
| 40-50 eggs observed..... | 11-12 |
| Number of eggs 55-60, about 20 per cent of them swollen, opalescent, near hatching | 28-30 |
| First 4-5 eggs hatched | 34 |
| 20-25 eggs hatched | 40-42 |
| First 2nd instars | 41 |
| First 3rd instars (worker); total of 30-35 eggs hatched | 49-50 |
| First 3rd instars (soldier) | 52-53 |
| First pigmented workers (minor) | 58-60 |
| First pigmented soldiers (minor) | 60-62 |
| First pigmented major workers | 67 |
| Small tunnel out of chamber begun..... | 73-75 |
| Fungus comb building commenced..... | 78-80 |
| Fungus comb of other species of <i>Ancistrotermes</i> (<i>A. crucifer</i> (Sjöst.) first introduced | 94 |
| Fungus comb of <i>Ancistrotermes guineensis</i> introduced..... | 130 |
| Appearance of <i>Termitomyces</i> hyphae on combs of own construction..... | 131 |

Oviposition.

Three to four days after construction of the nest chamber the first eggs appeared. The rate of oviposition averaged 5 eggs per day until 40-50 eggs were present. After this the rate of egg laying fell off rapidly until only one a day or fewer was laid.

In the laboratory nests the rate was not observed to increase again to any marked extent. In nature it might be expected to rise again when mature workers take over the care of the brood, and begin to supply nourishment to the king and queen, which until then are the sole source of food supply for the developing young.

Development of brood.

The rate of egg laying and development of the young was comparable to that recorded by Light and Weesner (1955) in *Tenuirostritermes tenuirostris* (Desn.). It was more rapid than was observed by Grassé and Noirot (1955) for *Macrotermes* (*Bellicositermes*) *natalensis* (Hav.), by Kemp (1955) for *Noditermes* sp. and *Odontotermes badius* (Hav.), or by Williams (1959) for *Cubitermes ugandensis* Fuller. Of the species recorded by Lüscher (1951) only *Reticulitermes lucifugus* Rossi was comparable, and *Pseudacanthotermes spiniger* Sjöst. was considerably slower to produce eggs and young. Five species of *Trinervitermes* which were reared at the same time as these *Ancistrotermes* under the same conditions showed equally rapid development, suggesting that it was due to a comparatively favourable environment rather than to major differences inherent in the species or families concerned.

During incubation the eggs increased in size, until immediately prior to hatching they had more than doubled their original volume. As other authors have observed, the imagos assisted the young in hatching and moulting. Instars lasted approximately 8 days each. It will be noted from the table of development that fully developed, pigmented, minor workers were present in the brood chamber for over two weeks before tunneling-out activity was begun, during which time they assisted in grooming the larvae and eggs.

Initiation of "fungus comb".

The first structures recognisable as the beginnings of "fungus comb" appeared in the chambers 78-80 days after the dealate imagos entered the plates. This occurred before the tunneling activities of the worker termites had brought them in contact with the wood chips with which they were supplied and the earliest combs therefore contained more mineral material than is usual. As soon as foraging on the wood began, the vegetable content rapidly increased. The first "combs" consisted of slender pillars of spheres, and later developed into aggregations of curiously serpentine shape, indicating in a rudimentary way the beginnings of the normal contours of the comb. These were closely similar to the early fungus combs of *P. spiniger*, described and photographed by Lüscher (1951). (Plate I, figs. 2 and 3).

The combs remained sterile with no trace of fungus at this stage. At about 94 days after setting up, the termites began to show signs of undernourishment in the form of white deposits in the fat body (Cf. Williams, 1950). The comb though normal in appearance still lacked fungus. Fungus comb of the commoner *Ancistrotermes crucifer* (Sjöst.) was obtained, and fragments including the white nodules of conidiophores and conidia

were placed in the foraging chambers of the plates. Both comb and nodules were quickly consumed by the termites (c.f. Sands, 1956), but the combs of their own construction remained sterile with no trace of fungus.

The fungus comb of *Ancistrotermes guineensis* (Silv.) proved difficult to find and did not become available until 130 days after the beginning of the experiment (at which time the comb in the plates was still sterile). When placed in the foraging chambers the comb was again quickly consumed in large quantities.

Hyphae of *Termitomyces* now appeared on the comb within 24 hours, and continued to grow until the conclusion of the experiment. Nodules of conidia and conidiophores were produced in the usual manner. (Plate I, figs. 4 and 5).

The fungus combs in the plate nests were constructed entirely from balls of faeces, partially moulded by the rectum. In the course of many hours under observation no chewed wood was ever added to the comb by the termites. On the other hand, the process of deposition of faecal pellets, resulting in the gradual building up of new comb, was observed many times. (Plate II, figs. 6 to 8).

When about to deposit a faecal pellet a worker walked over the comb to an area of recent defaecation. It then circled once or twice, curving the tip of the abdomen downwards. Simultaneously with the opening of the anus the abdomen was moved rapidly from side to side, finally rounding off the semi-liquid ball of faeces. The liquid content was rapidly absorbed by the rest of the comb, leaving a surface with an "oolitic" appearance as described by Grassé (1944) and Grassé and Heim (1950). Workers often remained motionless with their mouthparts in contact with the comb, presumably sucking up moisture. It was not uncommon for a worker to remove a newly deposited faecal ball and walk away eating it. Occasionally a ball picked up in the mouthparts would be replaced on the comb.

The new areas of faecal deposition were quickly covered with *Termitomyces* hyphae and, later, nodules. When well covered, the comb was eaten again, and was thus in continual circulation through the gut of the termites. This agrees with the observations of Grassé and Noirot (1957, 1958a) and their suggestion that the comb is part of the normal food cycle of the termites, in which the vegetable material is rendered more assimilable by the fungus, which also supplies other nutritive elements directly (see also Sands, 1956). (Plate II, figs. 9 to 11).

Conclusions and Discussion.

Many authors have accepted the theory first stated by Bathellier (1927) that the fungus combs of the Macrotermitinae were constructed from chewed wood. Grassé and Noirot have repeated this statement in a number of papers, and Grassé and Heim (1950) described the process of comb construction in *Ancistrotermes latinotus* (Holmgren) in Oubangui-Chari.

The earliest authors in this field believed the combs to be faecal in origin, and this older theory is here shown to be correct for *Ancistrotermes guineensis* (Silv.). However, reconsideration of the observations published by Bathellier is required, because they would otherwise appear to contradict those described in the present paper. Bathellier pointed out that all termites other than *Cryptotermes* produce semi-liquid brown faeces which dry to produce a hard material known as "carton", containing less vegetable matter in more finely divided form than occurs in fungus comb. (This statement is itself incorrect: the Kalotermitidæ can produce a carton-like material when building partitions or sealing holes, and in *Zootermopsis angusticollis* (Hagen), though much of the structural work in the nest is derived from liquid faeces, deposits of faecal pellets also frequently occur. Coaton (1946) describes the nest of *Hodotermes mossambicus* (Hagen) which builds the hive from fragile black carton of faecal origin, and expels faecal pellets along with the soil particles around the entrances of the foraging holes). Bathellier also stated that the contents of the rectal pouch of all the castes of *Macrotermes gilvus* which he examined were of a similar nature.

In the observation nests the production of fungus comb was not carried out by the entire population. The semi-liquid brown faeces produced by many of the termites were deposited anywhere, sometimes on the comb, but often on the walls of the chambers and galleries. Grassé (1937) noted the similarity between the contents of the rectal pouch of *Macrotermes (Bellicositermes) natalensis* (Hav.) and the fungus comb, but proceeded to restate Bathellier's theory on the grounds that the "normal" faeces were dark brown and semi-liquid. In fact the material obtained by dissection from the rectal pouch of a sample of workers from a mound might be expected to resemble fungus comb in relatively few cases.

It may be suggested that an individual termite only occasionally produces a faecal pellet, when it has fed directly on vegetable material, and that consumption of fungus comb or other pre-digested food gives rise to the brown semi-liquid type of faeces. Alternatively it is possible that the behaviour of workers changes with advancing age, resulting in a form of division of labour approximately analogous to that which occurs in some Hymenoptera. The latter theory is supported by the fact that apparently mature pigmented workers remained in the brood chamber for over two weeks before beginning to tunnel out. A similar comparatively sudden change of behaviour was recorded by Grassé and Noirot (1955) in young colonies of *Macrotermes (Bellicositermes)* in connection with the very rapid construction of the "hive".

The account given by Grassé and Heim (1950) also requires further comment, since these authors describe the fungus comb as being made of—"little balls of chewed wood, perfectly spherical, stuck together, one on another, and always maintaining a very distinct 'oolitic' appearance"—stating: « Nous avons assisté à leur confection et suivi les étapes de leur développement ». The description they give of the early stages of deve-

lopment of the comb agrees exactly with the observations from the plate nests, with the exception of the faecal nature of the comb. It may therefore be presumed that though Grassé and Heim observed various stages in the construction of the comb by examination of newly-opened nests, they were not able to witness the actual deposition of faecal pellets. Worker termites carrying pellets in the mouthparts may have led to the conclusion that they were of chewed wood: this point has already been covered in the previous section. Later in their paper, the authors note that the more liquid type of faeces are often deposited on the comb, and that the reddish spots so formed are soon covered with hyphae like the rest. Grassé and Noirot (1958a) state in a footnote that in their young colonies of *Bellicositermes* (paper of 1955) the rapid construction of the comb did not permit them to follow it in detail.

In the inhabitants of a normal colony, the contents of the rectum vary from a yellowish fluid in very young workers and older nymphs to the copious material used by workers to build the fungus comb. The deposition of different types of faeces in different parts of the nest is not uncommon in the Isoptera, from *Kalotermitidae* upwards. In many carton nest builders (e.g. *Cephalotermes*, *Microcerotermes*) the outer parts of the nest are made of dark brown carton of a very different structure and consistency from the inner, a difference which is inherent in the material and not merely due to the prevailing higher humidity in the interior. The occurrence of a similar habit in the *Macrotermitinae* is therefore not in any way abnormal or unusual.

It has already been shown (Sands, 1956) that the fungus comb is an essential part of the diet of *Odontotermes badius* (Hay.). These results with *Ancistrotermes guineensis* (Silv.) indicate that a very close symbiosis exists between termite and *Termitomyces*. The failure of the alien fungus to become established on the comb, and the immediate growth of the correct one suggests that there is only one species or strain of *Termitomyces* associated with this termite species.

The early sterility of the comb in the plates also suggests that the swarming alates did not carry with them an inoculum of viable spores from the parent colony. Grassé and Noirot (1955) reported the construction of fertile combs in their laboratory colonies of *Macrotermes* (*Bellicositermes*) *natalensis*, but considered that the origin of the fungus could not with certainty be attributed to inoculation by the young king and queen. In view of the great abundance of *Macrotermes* (*Bellicositermes*) *natalensis* the basidiospores of its associated *Termitomyces* may be expected to be equally common, and were probably introduced with the wood included in their laboratory nests. Lüscher (1951) reared young colonies of *Pseudacanthotermes spiniger* (Sjöst.) in which the fungus combs remained sterile. It seems more probable that the development of fungus on the comb of the young colony is dependant on the introduction, by chance or otherwise, of basidiospores by the worker castes during earliest foraging among dead wood above ground level. Failure to obtain basidiospores might result in

the premature death of many young colonies of Macrotermitinae, and thus be an important factor controlling their distribution and abundance.

The significance of fungus comb in the phylogeny of the Macrotermitinae as a whole may now be reviewed in the light of the observations described here. The diversity of appearance and texture of the combs is well known, from the descriptions of the majority of the genera by Kenner (1934), Grassé (1944-45) and Grassé and Noirot (1951). This variation in the production of the combs is not readily explained on the basis of their hypothetical construction from chewed wood. The more primitive genera such as *Pseudacanthotermes* and *Acanthotermes* produce combs of a denser, more homogeneous, and less granular or "oolitic" structure than the rest of the group. They are relatively simple being of convoluted lamellae rather than sponge-like form, though in *Acanthotermes* they are rather more variable than in *Pseudacanthotermes*. In other genera the combs are more complex in their architecture and more granular in texture. The greatest complexity of form is found in *Odontotermes* and *Protermes*. The smaller genera, *Ancistrotermes* and *Microtermes*, have combs in which the granular texture is most strongly developed, and the loss of cohesion between the pellets may be responsible for the reduction in the complexity of form. The end point in this respect appears to have been reached in some *Microtermes* in which the "combs" are mere crumbling aggregations of pellets with a few pits in the surface.

It is suggested that the differences of form and texture of the fungus comb can best be explained by differing degrees of symbiosis of the termites with the fungi of the genus *Termitomyces*. The more primitive genera are not far removed from their Rhinotermitid-like ancestors in which the faeces produce "carton". The fungus comb of *Pseudacanthotermes* closely resembles the soft carton found in the nests of some *Coptotermes*. According to Grassé (1944) this similarity was a fortuitous convergence with no phytogenetic significance, on the grounds that the origins of the two structures were different. Since the faecal nature of comb has been demonstrated, his objection is removed. It is reasonable to suggest that fungus combs have evolved from soft carton similar to that which occurs in the Rhinotermitidæ, because these complex structures must have had some simpler precursor in more primitive groups without any symbiosis with basidiomycete fungi. As the latter habit has evolved, and the dependence of the termites on the fungus for their nutrition has increased, the structure of the comb has become more adapted to its use as a fungal substrate. The reduction of the ability to digest woody material might result in a higher vegetable content and more pellet-like structure in the faeces, such as seen in *Microtermes*. The greater dependence of *Microtermes* on the comb is to some extent indicated by the completeness with which it is eaten by the termites, as was noted by Grassé and Noirot (1957). Similar behaviour was observed in *Ancistrotermes guineensis* in the plate nests described above.

Summary.

Ancistrotermes guineensis (Silv.) colonies were reared in observation nests. The timetable of development of the young colony is given. The construction of fungus comb from the faeces of the worker caste was observed; chewed wood was not used in constructing the comb. The fungus comb remained sterile until the correct species of *Termitomyces* was introduced. The symbiosis between termite and fungus would appear to be specific. It seems that the alates do not carry an inoculum of viable spores of the fungus from the parent colony, but that workers introduce basidiospores in early foraging. This may be an important factor controlling the abundance of the termites. The phylogeny of the Macrotermitinae is reviewed in the light of the new evidence.

Résumé.

Quelques colonies d'*Ancistrotermes guineensis* (Silv.) ont été élevées dans des nids sous verre pour en faciliter l'observation. La table chronologique du développement de la nouvelle colonie est donnée. On a observé que seule la matière fécale était utilisée pour la construction des meules à champignons et que les termites ne se servaient pas du bois mâché. Les meules demeurèrent stériles jusqu'à l'introduction de l'espèce correcte de *Termitomyces*. La symbiose entre les termites et les champignons paraît être spécifique. Il semble que les essaimants ailés ne transportent pas d'inoculum de spores vivantes de la colonie d'origine et que les ouvriers les introduisent lors des premières récoltes à l'extérieur. C'est peut-être là un facteur important qui règle l'abondance des termites champignonnistes. La phylogénie des Macrotermitinae doit être reconsidérée en fonction de cette nouvelle évidence.

Zusammenfassung.

Die Kolonien von *Ancistrotermes guineensis* (Silv.) waren in Beobachtungsnestern gezüchtet. Die wichtigsten Daten in der Entwicklung der jungen Kolonie ist gegeben. Die Konstruktion der Pilzgarten aus dem Kot der Arbeiter wurde beobachtet; gekautes Holz wurde nicht für den Bau benutzt. Der Pilzgarten blieb sterile bis die richtige Art von *Termitomyces* eingeführt wurde. Es ist wahrscheinlich, dass die Symbiose zwischen Termiten Art und Pilz spezifisch ist. Es scheint als ob die Geflügelten beim Ausschwärmen von der ursprünglichen Kolonie nicht Pilz Basidiosporen mitnehmen, sondern dass die Arbeiter sie beim ersten foragieren einschleppen. Diese Tatsache könnte in der Kontrolle des Ueberflusses von Termiten sehr wichtig sein. Die Phylogenese der Macrotermitinae ist im Lichte dieser neuen Evidenz besprochen.

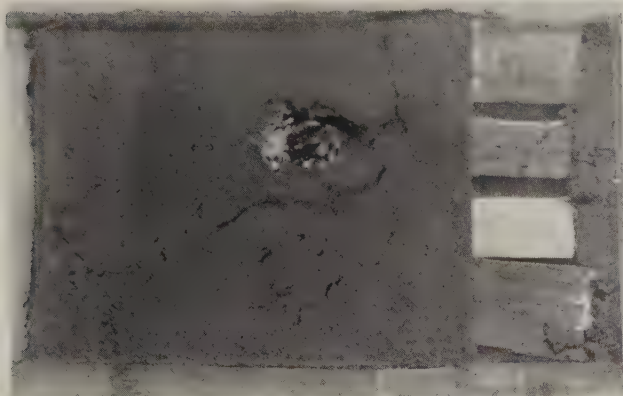
ACKNOWLEDGEMENTS. — I am indebted to Mr. W. V. Harris, Officer-in-Charge, Colonial Termite Research Unit, for the identification of the species of *Ancistrotermes* and for advice; also to Mr. M.E. Bacchus for the preparation of the photographs which illustrate this paper.

REFERENCES.

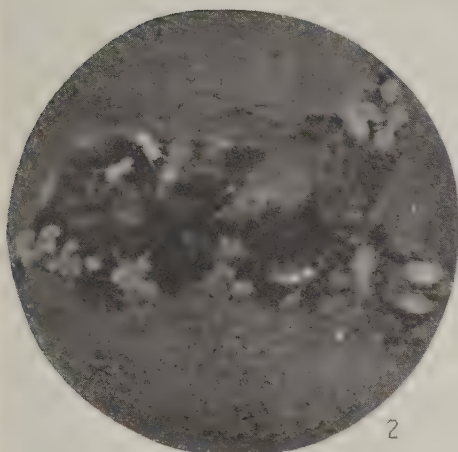
- 1927 a. BATHELLIER (J.). — Observations sur les mœurs des termites indochinois, leurs habitations, leurs moyens de défense, etc. (*Faune Colon. franç.*, **1**, 184-218). — 1927 b. Les cultures mycéliennes des termites de l'Indochine (*Ibid.*, 333,366).
1946. COATON (W. G. H.). — The Harvester Termite Problem in S. Africa (*Bull. Dept. Agric., Pretoria*, **292**, 1-38).
1928. EMERSON (A. E.). — Termites of the Belgian Congo and the Cameroons (*Bull. Amer. Mus. nat. Hist.*, **57**, 401-574).
1937. GRASSÉ (P. P.). — Recherches sur la systématique et la biologie des Termites de l'A. O. F., 1^{re} partie (*Ann. Soc. ent. France*, **106**, 1-100). — 1944-45. Recherches sur la biologie des Termites champignonnistes (*Macrotermitinæ*), 1^{re} partie (*Ann. Sci. nat. Zool.*, **11** (6), 97-172). — Ditto, 2^{me} partie (*Ibid.*, **11** (7), 115-146).
1950. GRASSÉ (P. P.), HEIM (R.). — Un *Termitomyces* sur meules d'un *Ancistrotermes* Africain (*Rev. sci. Paris*, **88** (1), 3-13).
1948. GRASSÉ (P. P.), NOIROT (C.). — Sur le nid et la biologie du *Sphaerotermites sphaerotherax* (Sjöstedt) (*Ann. Sci. nat. Zool.*, **11** (10), 150-164). — 1951. Nouvelles recherches sur la biologie de divers Termites champignonnistes (*Macrotermitinæ*) (*Ann. Sci. nat. Zool.*, **11** (13), 291-342). — 1955. La fondation de nouvelles sociétés par *Belliositermes natalensis* (Hav.) (*Insectes Sociaux*, **2** (3), 213-220). — 1957. La signification des meules à champignons des *Macrotermitinæ* (Ins., Isoptères) (*C. R. Acad. Sci., Paris*, **224**, 1845-1850). — 1958 a. La meule des Termites champignonnistes et sa signification symbiotique (*Ann. Sci. nat. Zool.*, **11** (20), 113-127). — 1958 b. Construction et architecture chez les Termites champignonnistes (*Proc. X. Int. Congr. Ent.*, **2**, 515-520). — 1959. L'évolution de la symbiose chez les Isoptères (*Experientia*, **15** (10), 365-372).
1912. HOLMGREN (N.). — Termitenstudien III. Systematik der Termiten die Familie Metatermitidae (*K. svenska Vetensk. Akad. Handl.*, **48** (4), 107-136).
1934. KEMNER (N. A.). — Systematische und Biologische Studien über die Termiten Javas und Celebes' (*K. svenska Vetensk. Akad. Handl. Ser. 3*, **13** (4), 1-241).
1955. KEMP (P. B.). — The Termites of N. E. Tanganyika: their distribution and biology (*Bull. ent. Res.*, **46** (1), 113-135).
1955. LIGHT (S. F.), WEESNER (F. M.). — The incipient colony of *Tenuirostritermes tenuirostris* (Desn.) (*Insectes Sociaux*, **2** (2), 135-146).
1949. LUSCHER (M.). — Continuous Observation of Termites in laboratory cultures (*Acta. trop., Basel*, **6**, 161-165). — 1951. Beobachtungen über die Kolonie-gründung bei verschiedenen afrikanischen Termitenarten (*Acta. trop., Basel*, **8**, 36-43).
1956. SANDS (W. A.). — Factors affecting the survival of *Odontotermes badius* (Hav.) (*Insectes Sociaux*, **3** (4), 531-536).
1911. SJOSTEDT (Y.). — Zur Termiten fauna Kongos (*Ent. Tidskr.*, **32** (3-4), 37-70).
1959. WILLIAMS (R. M. C.). — Colony development in *Cubitermes ugandaensis* (*Insectes Sociaux*, **6** (3), 292-304).

PLATE I

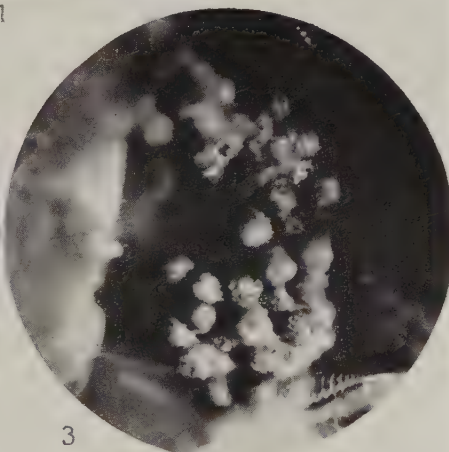
- FIG. 1. — Entire plate nest showing brood and royal pair in chamber, and wood chips inserted for food.
- FIG. 2. — Brood chamber of another plate nest enlarged to show the beginnings of fungus comb towards the left side of the chamber. Eggs and second instar larvae are visible, also a few mature workers.
- FIG. 3. — Sterile fungus comb before the introduction of the *Termitomyces* sp. associated with the comb of the *Ancistrotermes guineensis* (Silv.) showing the granular structure of the comb.
- FIG. 4. — Fungus comb 24 hours after introduction of the correct species or strain of *Termitomyces*—hyphae have spread over all except the most recently deposited pellets.
- FIG. 5. — Fungus comb some time later, nodules of conidia and conidiophores developing in a typical manner.



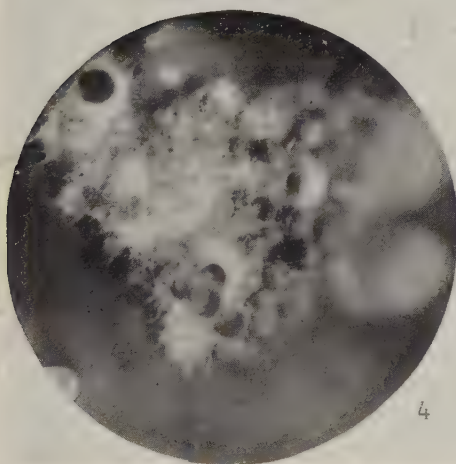
1



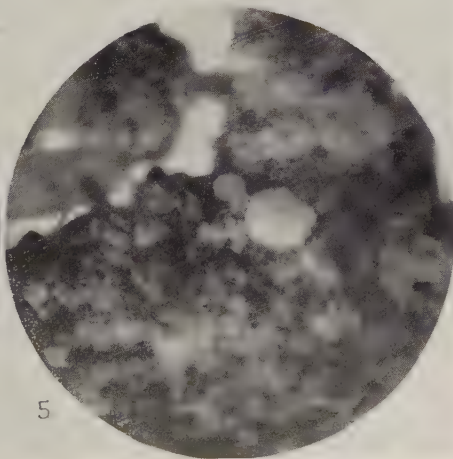
2



3



4



5

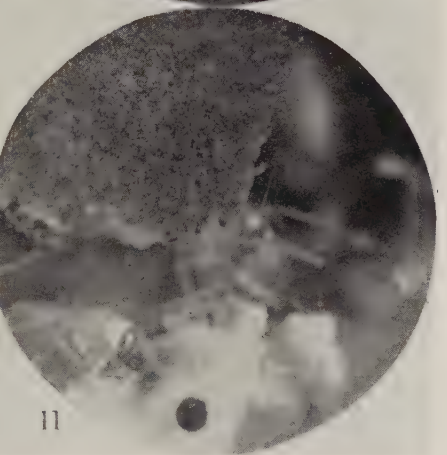
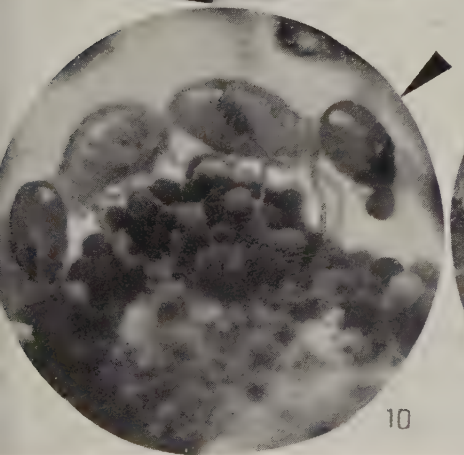
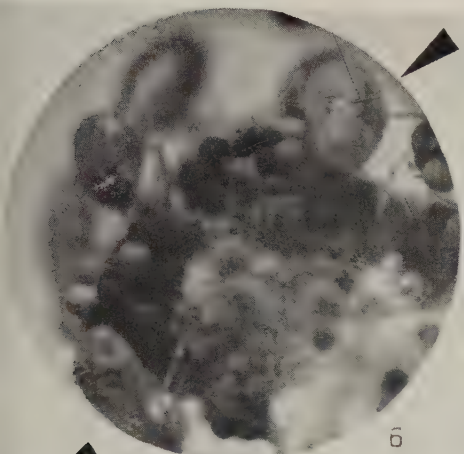
PLATE II

FIG. 6, 7, 8.—Worker termites in the act of depositing faecal pellets. That in 6 is positioning itself; that in 7 is expelling the pellet, and, is, therefore, in rapid side-to-side motion; in 8 the worker has deposited a pellet.

FIG. 9.—Worker termite sucking up moisture from the comb. The abdomen of the same individual appears in Figures 7 and 8, showing that several minutes were occupied in this manner by this termite whilst comb construction was taking place all around it.

FIG. 10.—A worker having removed a newly-deposited faecal pellet from the comb, is shown moving away it held in the mouthparts.

FIG. 11.—The older parts of the comb, well covered with hyphae, are being eaten by the termites, one of which is shown at work.



THE EARLY ESTABLISHMENT OF DIMORPHISM IN THE FEMALE HONEYBEE, *APIS MELLIFERA* L.

by

R. W. SHUEL and S. E. DIXON

(Department of Apiculture and Department of Entomology and Zoology,
Ontario Agricultural College, Guelph, Canada.)

Introduction.

Polymorphism and its social expression, caste, are widespread in the order Hymenoptera. Because of economic interest in the honeybee, *Apis mellifera*, variation in form in this species has received much attention. The present discussion will be restricted to the honeybee; various areas of research will be reviewed. Among the excellent general discussions of polymorphism available are: Brian (1957), Light (1943), Mitchener and Mitchener (1951), and Wheeler (1928). There are, as well, specific treatises on ants: Bier (1956), Brian (1954-56), Wilson (1953); bumblebees: Free and Butler (1959); honeybees: Gontarski (1941), Haydak (1943), Lukoschus (1956), Smith (1959); termites: Buchli (1958), Lüscher (1956); wasps: Blackith (1958); and parasitic hymenoptera: Flanders (1950), Salt (1937, 1952), and Schmieder (1939).

Caste characteristics in honeybees.

Structural and physiological differences between worker and queen have been described in detail by Ribbands (1953), Snodgrass (1956), and Lukoschus (1956). In addition to her greater size, the queen differs from the worker in a number of external features. The differences in reproductive development are the aspect which is most pertinent to this discussion. The queen is capable of mating and laying a large number of fertilized and unfertilized eggs over a period of several years (Ribbands). Each of her ovaries consists of 160-180 ovarioles, and the spermatheca is well developed (Snodgrass). By contrast, the spermatheca of the worker is rudimentary and the ovaries are reduced to 2-12 ovarioles each (Snodgrass). The ovarioles, though reduced in number, are not rudimentary, but produce oocytes, which are normally resorbed (Wigglesworth, 1954). Under certain conditions, the ovaries may be activated, resulting in the production of a small number of unfertilized eggs (Ribbands). The ability to mate and lay fertilized eggs is the ultimate criterion of a queen.

Comparative data on salivary gland development in the queen, worker, and drone honeybee have been presented in detail elsewhere (Ribbands, Snodgrass). Of the 6 sets of glands comprising the salivary system, the hypopharyngeal and mandibular glands are in the light of present know-

ledge of most interest in relation to caste differences. The hypopharyngeal glands are vestigial in the queen and developed in the worker to a degree varying with her physiological state, being small and empty in newly emerged bees and fully developed only in nurse bees (Kratky, 1931), and "winter" bees (Maurizio, 1954). Protein (pollen) ingestion causes rapid development (Kratky, Maurizio). Bees restricted to a carbohydrate diet rear brood for only a short period; under these conditions the hypopharyngeal glands do not develop (Kratky). The hypopharyngeal glands elaborate secretions fed to all larvae and to the adult queen (Snodgrass). The mandibular glands are well developed in both female castes, but are larger in the queen. Like the hypopharyngeal glands they require protein for full development (Kratky). Ribbands' suggestion that the mandibular glands of workers may contribute to the larval diets has recently been confirmed (Butler and Simpson, 1958; Callow, Johnston and Simpson, 1958).

The endocrine glands of adult bees appear to be similar in position and appearance to those found in other insects (Nelson, 1924; Rehm, 1939; Lukoschus, 1952; L'Hélias, 1950, 1952; Pflugfelder, 1948; Schaller, 1950; Thomsen, 1954; Weyer, 1935). Less is known of the physiology of the endocrine glands of the bee because bees are not as susceptible to surgical techniques as some other insects.

Larval development in queens and workers.

GROWTH. — At 35° C and 100 per cent relative humidity eggs were observed to hatch about 75 hours after laying (Dixon and Shuel, 1959). The duration of post-embryonic development is normally about 13 days for queens and 17 or 18 days for workers (Bertholf, 1925), subject to a modifying influence of temperature (Milum, 1930). According to Bertholf the first 4 moults occur at approximately the same times in both castes between the fourth and seventh days after oviposition. Subsequent development is faster in the queen. The queen larva is sealed in its cell on the seventh day, the worker at the end of the eighth day. The fifth (pre-pupal) moult of the queen comes on the tenth day and the sixth (emergence) at the end of the fifteenth. The corresponding worker moults occur at the end of the eleventh and twentieth days, respectively.

Larval growth follow the familiar sigmoid curve, with a rapid increase in weight after 60 hours (Nelson and Sturtevant, 1924; Stabe, 1930). Stabe's measurements, made at 6 hour intervals, showed an almost identical growth rate in queen and worker larvae for the first 48 hours, followed by a more rapid increase in weight of workers which lasted for about a day. After 96 hours queen larvae surpassed the workers in weight and continued to grow faster, achieving on the average a maximal weight of 322 mg. at 132 hours, compared with 152 mg. at 120 hours for the workers. The queen larva unlike the worker is supplied with food when sealed, and continues to gain in weight.

DEVELOPMENT OF THE REPRODUCTIVE ORGANS. — Development of the reproductive organs in the honeybee was treated comprehensively by Zander, Löschel, and Meier (1916). Sexual development was similar in queen and worker larvae for the first day. By the end of the second day, however, a disparity in ovary growth had appeared, the queen ovary measuring 0.55 mm., the worker ovary only 0.38 mm. By the end of the third day the queen ovary had 130 ovarioles as compared with 90 for the worker. As the number of individuals measured was not stated, one cannot be certain of the exact significance of the quantitative differences. However, a qualitative difference appeared on the second day. Whereas the ovarioles of the queen extended almost the entire length of the ovarian tissue, those of the worker were limited to the proximal half. The same authors described the reduction in number of ovarioles in the worker during the prepupal stage and the retrogression of the spermatheca in the pupal stadium. Here, then, is evidence of an early dichotomy in queen and worker development. Further evidence has been afforded by the cytological studies of Mickey and Melampy (1941). Nuclear fragmentation in fat cells begins during the third larval day in the queen and a day later in the worker.

Biochemical and metabolic studies.

The chemical analyses of Melampy et al (1940) show marked differences between castes with respect to tissue composition of 3 or 4 day old larvae. The tissues of queen larvae contain a higher percentage of lipids and a lower percentage of nitrogen and reducing substances. During the next two or three days there is a substantial percentage increase in reducing substances in the queen but little change in nitrogen or lipids; in the worker there is a marked reduction in nitrogen accompanied by a moderate increase in lipids and a large percentage increase in reducing substances.

Differences in respiratory activity between castes are also manifested early in larval life. Melampy and Willis (1939), using the direct Warburg method, found a much higher rate of gas exchange in 2 to 3 day old queen larvae. The respiratory quotient was 1.16 for queens and 1.42 for workers. Cartesian diver measurements of gas exchange in larvae during the first 24 hours (Shuel and Dixon, 1959) have revealed a much higher net carbon dioxide evolution on a substrate of royal jelly than on the diet supplied to worker larvae during the first three days. Evidently metabolic differences are established very early in the larval period and are a reflection of nutritional differences.

Quantity and composition of larval diets.

Queen larvae receive a surplus of food throughout the larval period, whereas worker larvae are supplied with an excess only for the first 3 days (Nelson and Sturtevant, 1924).

Comprehensive reviews of the chemistry of royal jelly have been written by Johannson (1955) and Johannson and Johannson (1958). Sufficient royal jelly for macrochemical analysis is fairly easily obtained. A macrochemical analysis by Townsend and Lucas (1940) showed the solids in royal jelly to include 30-35 per cent protein, 28 per cent sugars, and 10-15 per cent ether-soluble materials. A free fatty acid, later identified as 10-hydroxy- Δ^2 -decenoic acid (Butenandt and Rembold, 1957; Barker, Foster, and Lamb, 1959) constituted 80 to 85 per cent of the ether-soluble fraction. Although reliable comparative and serial analyses have had to await the advent of microanalytical techniques, differences in the chemical composition of larval diets have long been recognized (Planta, 1888-89; Kestner and Plaut, 1924). Planta found royal jelly to be higher in fat than the diet of young worker larvae. After the fourth day the percentage of protein in worker diet decreased and the percentage of reducing substances increased. Kestner and Plaut reported similar changes. The change in the composition of the worker diet around the third or fourth day can be attributed to the addition of honey and pollen by nurse bees (Ribbands, 1953). Apparently the addition of honey is the more significant; Simpson (1955) has shown that the amount of nitrogen added as pollen to the diet of older worker larvae is relatively minor. Recently Shuel and Dixon (1959) compared the diets of queen and worker larvae in the age groups 0-30 and 72-96 hours. No appreciable change with larval age was noted in the major constituents of royal jelly. Statistical comparison revealed, in addition to the expected change in worker diet after the third day, significant differences between the respective secretions fed to young larvae of the queen and worker castes. The diet of the worker was very high in protein and very low in sugars, that of the queen intermediate in respect to both constituents. Differences were found also in the lipid content and the titratable acidity. Butenandt and Rembold (1957), however, reported similar concentrations of 10-hydroxy- Δ^2 -decenoic acid in royal jelly and worker diet. They did not specify the age of the larvae in the cells from which the worker diet was obtained.

The first known qualitative difference between the diets of royal and worker larvae has recently been reported. Butenandt and Rembold (1958) have isolated bipterin (2-amino-4-hydroxy-6-(1,2 dihydroxyl-propyl) pteridine from royal jelly, and have also established its presence in queen larval tissue, but not in either the diet or the body tissue of worker larvae (1).

(1) Low levels of bipterin have recently been found in worker diet (HANSEN and REMBOLD, 1960).

Brown and Freure (1959) have found sebacic acid and 2-decendioic acid in royal jelly. Comparable data for worker diets are not yet available.

Analyses have been made of the free and combined amino acids in royal jelly (Pratt and House, 1949; Weaver and Kuicken, 1951; Ammon and Zoch, 1957), but precise quantitative data for worker diets have not as yet been reported. The protein electrophoretic patterns of royal jelly and the food of worker larvae under 3 days of age are qualitatively similar (Habowsky and Shuel, 1959; Patel, Haydak and Gochnauer, 1960).

Vitamin assays by Haydak and Vivino (1950) indicated similar concentrations of B vitamins in royal jelly from cells containing larvae 1-5 days of age, and worker jelly from cells with 1-2 day larvae. The vitamin concentration was greatly reduced in the diet of older worker larvae. Lingens and Rembold (1959) found a considerable reduction in the pantothenic acid content of royal jelly fed to 5-day larvae as compared with royal jelly fed to 3-day larvae.

Other differences in larval diets may arise from physical and chemical changes on standing. Abbott (1955) noted a slow evolution of carbon dioxide in stored royal jelly. Goillot (1957) found a rapid increase in the electrical conductivity of royal jelly after 30 hours' storage at temperatures between 0° and 30° C. Dixon and Shuel (1958) noted a rapid oxygen uptake in freshly collected royal jelly at 35° C. Whether such changes are of biological significance is not yet known.

The term "worker jelly" has been proposed for the secretion fed to young worker larvae, and the term "modified jelly" for the diet altered by the nurse bees after the third day (Shuel and Dixon, 1959). Recently Haydak (1959) has suggested that the latter term be amended to the more specific "modified worker jelly". The terms "worker jelly" and "modified worker jelly" will be used in the remainder of this review. The general term "worker diet" will include both worker jelly and modified worker jelly.

The existence of two distinct types of royal jelly has been postulated by v. Rhein (1950-51, 1956). Although present knowledge of its chemical composition is far from complete, changes in the major constituents of royal jelly with larval age appear to be negligible (Jacoli and Poggioli, 1956; Shuel and Dixon, 1959). The changes in pantothenate found by Lingens and Rembold (1959), though striking, do not necessarily indicate the provision of a unique secretion to older royal larvae.

Rearing experiments.

The experimental rearing of honeybee larvae has received much attention. Criteria of dimorphism have included: size of ovaries (v. Rhein, 1933; Weaver, 1955, 1957, 1957a), number of ovarioles (v. Rhein, 1933; Smith, 1959; Weaver, 1955, 1957, 1957a), size and shape of the spermatheca (v. Rhein, 1933; Weaver, 1957; Vagt, 1955), size and shape of the

abdomen (Weaver, 1955, 1957), characteristics of the metathoracic legs, the sting, and mandibles (v. Rhein, 1933; Smith, 1959; Weaver, 1955, 1957), tongue length (Weaver, 1955, 1957; Smith, 1959), size of the mandibular glands (v. Rhein, 1933; Weaver, 1955, 1957), and the duration of the developmental period (Weaver, 1957).

The quantitative nature of caste determination has been demonstrated in various experiments (Klein, Zander and Becker, cited by Ribbands, 1953; Smith, 1959; Vagt, 1955; Weaver, 1957). When larvae varying in age from one-half day to 3 days are transferred from worker cells to queen cells, certain morphological characters in the resulting imagoes are intermediate between queen and worker means (Vagt, 1955; Weaver, 1957). Evidently differentiation begins on the first day and is progressive. As the larval age at the time of transfer is increased, a higher percentage of workers and intermediate forms is obtained. Transitional forms are especially common among laboratory-reared bees (Weaver, 1955; Smith, 1959). Weaver (1957) has suggested that the potential for polymorphism exists in the female honeybee, but that certain controls in the natural milieu limit its expression to two forms. Eckert (1934) found only one intermediate adult among 281 queens produced from larval transfers within the colony.

The influence of larval age on the effectiveness of a given diet is illustrated by the work of Weaver (1957) and v. Rhein (1933, 1950-51, 1956). Weaver found that 1-day old larvae transferred to queen cells for 24 hours and then returned to worker cells became normal workers, whereas 2- or 3-day old larvae similarly treated exhibited some queen characteristics. One-day old larvae transferred for 2 days and then returned to worker cells also developed some queen-like features. In Rhein's experiments, larvae transferred from royal jelly to modified worker jelly developed into adults resembling workers, intermediates, or queens depending on their weight when the diet was changed. Those weighing less than 20 mg. became workers, those weighing more than 46 mg. developed into queens. According to Stabe's growth data (1930), this weight range would comprise larvae from about 72 to 85 hours of age.

A significant feature of v. Rhein's experiments was the inadequacy of worker jelly for pupation, a finding confirmed by Smith (1959).

Results of laboratory feeding experiments suggest that storage of royal jelly may affect its queen-determining properties. Weaver (1956) found that the majority of larvae fed on royal jelly which had been stored for a year at 5° C developed into worker or worker-like imagoes, and postulated a labile determinant. Smith (1959) obtained adult queens on royal jelly which had been freshly collected; stored at 4° C for 6 months; stored at -15° C for a year or longer; or lyophilized, stored at -15° C for 18 months and rehydrated. Survival to the imago stadium varied from 9 per cent (on royal jelly which had been lyophilized and reconstituted) to 56 per cent (on royal jelly kept at 4° C). Survivors included worker and intermediate forms as well as queens. Distribution comparisons based on Chi-squared tests show by far the highest ratio of

queens to other forms among larvae fed with royal jelly from 1,2, and 3-day queen cells as they reached the appropriate age. Prolonged storage greatly increased the relative frequency of worker and transitional forms. Jay (1959) compared weights at defecation of larvae taken from queen and worker cells and reared on royal jelly freshly collected or stored at -15°C for 2 years. The fresh material was in general superior to the stored, the superiority being more pronounced among larvae taken from queen cells. Reducing the intervals between transfers of larvae to fresh food from 24 to 6 hours resulted in an appreciable increase in weights at defecation.

High mortality rates are common in laboratory rearing experiments (Weaver, 1956; Smith, 1959; Hoffmann, 1956). Although these might be due in part to mechanical injury, other factors are probably involved. A technique by which a majority of young larvae could be reared to the imago stage would be invaluable.

Although the physical environment, particularly with respect to temperature and humidity, may be critical in the laboratory rearing of honeybees (Smith, 1959; Jay, 1959), there is at present no convincing evidence that physical factors are of major significance in caste determination under natural conditions.

Laying workers and queen substance.

Under certain conditions, usually when colonies are both queenless and broodless, ovaries of worker bees may be activated and a limited number of eggs produced. Although ovary activation occurs in the adult stadium long after caste determination, it may be regarded as a partial reversal of the direction of worker development, and treated in the same context as caste establishment.

In 1942, Hess postulated the production by the queen of a substance capable of inhibiting ovary ripening in the workers. Since then Butler and his colleagues (1954-59), de Groot and Voogd (1954), Müssbichler (1952) and Pain (1954, 1955, 1956, 1956a) have confirmed Hess' theory and have further elucidated the nature of the inhibitory substance. In addition to suppressing ovarian function it inhibits the production of emergency queen cells (Butler, 1956, 1957; Butler and Gibbs, 1958). The substance has been named "ectohormone" by Pain and "queen substance" by Butler. Its effects both on the ovaries (Pain, 1956a) and on queen cell production (Butler, 1957) are quantitative. Queen substance is elaborated in the mandibular glands of the queen (Butler, Callow, and Johnston, 1959; Butler and Simpson, 1958) and it appears to be closely related chemically to 10-hydroxy- Δ^2 -decanoic acid (Butler, Callow, and Johnston) (1). Its source and structural affinity are particularly interesting, as 10-hydroxy-

(1) The structure of queen substance has recently been established as 9-oxodec-2-enoic acid (Callow and Johnston, 1960).

Δ^2 -decanoic acid is produced in the mandibular glands of worker bees (Barker et al, 1959; Callow et al, 1959).

Inhibition phenomena similar to those caused by queen substance have been described for termites (Castle, 1934; Lüscher, 1956) and for ants (Gregg, 1942).

The mode of action of queen substance is still unknown. Considered in the light of (1) known protein needs for both egg production (Wigglesworth, 1954) and the development and functioning of the pharyngeal glands (Kratky, 1931) and (2) the appearance of laying workers in colonies which are both queenless and broodless and in which one would expect a surplus of protein, a likely role for queen substance is in the mobilization of protein in the worker body.

Queen substance is distributed throughout the colony in regurgitated food (Butler, 1956). As modified worker jelly contains an admixture of honey, it is likely that queen substance is present in the diet of older worker larvae. It is possible, moreover, that it may contribute to the retrogressive changes in the reproduction organs of the worker during the prepupal and pupal stadia. Its presence in modified worker jelly might be demonstrable by the use of isotopic tracer techniques.

In contrast to the action of queen substance in suppressing ovarian development, Altmann (1950, 1952) produced a stimulation of the ovaries of the adult workers with injections of extracts of queen adults or larvae, 2-day old worker larvae, royal jelly from cells of 1-2 day queen larvae, or the heads and thoraces of worker bees. The source of the active principle appeared to be the corpora allata.

Nutritional and humoral factors.

In summary of the evidence of many histological, nutritional, and biochemical investigations, it may be stated that development in the worker larva appears to comprise two phases, defined by the addition of honey to the diet by nurse bees. Comparisons between workers and queens may conveniently be related to these periods. In the first phase both groups are supplied with unrestricted quantities of highly nutritious diets, but the compositions of the diets differ with respect both to the major constituents (Shuel and Dixon, 1959), and trace substances (Butenandt and Rembold, 1958; Lingens and Rembold, 1959). Intercaste differences in respiration, tissue composition, and the state of development of the reproductive organs already exist. Instars are of approximately equal duration in both castes, but the growth rate of the worker exceeds that of the queen. The worker diet will not, however, promote metamorphosis.

In the second phase the queen larva continues to be fed on a high nutritional plane, while the worker receives a low protein, high carbohydrate diet restricted in quantity. Protein synthesis in worker tissue is diminished, and the content of reducing substances is greatly increased (Melampy

et al, 1940). The growth rate of the queen greatly exceeds that of the worker and the interval between moults is much shorter in the queen. This situation is characteristic of animals reared on a high plane of nutrition (Waddington, 1956). Some of the endocrine organs are more highly developed in the older queen larva (Lukoschus 1956a). Reproductive development in the worker is now reversed, the ovaries and spermatheca being reduced in size (Zander et al, 1916).

From the evidence of studies of larval metabolism, chemical composition, and nutrition, it appears that the dichotomy between castes is initiated in the first phase, and consummated in the second.

The evidence of numerous rearing experiments rules out the possibility of a genetic causation for dimorphism. It must be epigenetic, and there can be little doubt that nutrition is the major extrinsic factor controlling caste expression in the honeybee, as it appears to be in bumblebees (Free and Butler, 1959), wasps (Brian, 1957; Light, 1943), ants (Brian 1954-56, 1957; Light, 1943), and termites (Buchli, 1958).

Two questions may now be asked: (1) what dietary factor initiates the series of events culminating in female dimorphism? and (2) what is the mode of action of this factor? The second question will be considered first.

The role of hormone balance in metamorphosis has been thoroughly reviewed by Wigglesworth (1954). Wigglesworth regards metamorphosis as a special case of polymorphism. Present information indicates that the general concept of hormone balance in relation to metamorphosis is applicable to the honeybee (Fyg, 1956, 1959; Schaller, 1951, 1952; Lukoschus, 1955, 1955a, 1956, 1956a). The evidence for the extension of this concept to caste differentiation will now be examined.

During adult life differing states of activity of the various endocrine glands are operative. Scharrer and Scharrer (1945) noted that the neuro-secretory cells are most active in foraging bees when they are collecting pollen and nectar. More recently Formogoni (1956) has given a quantitative expression to these changes in secretory activity in relation to behaviour and the division of labour. Pflugfelder (1948) showed that the corpora allata were larger in the worker adult than in the queen. Lukoschus (1956) showed that in the immature forms the endocrine organs were considerably larger in the queen than in the worker after the fourth or fifth day of larval life, and correlated corpora allata volume with the oxygen uptake data of Melampy and Willis (1939). The lower blood densities in queen larvae (Smith, 1959) may be a consequence of the larger corpora allata; Altmann (1953, 1956) found that the injection of corpora allata extract into adult bees lowered blood density. In the light of these facts, and of the known metabolic, biochemical, and anatomical differences between castes in the early larval period, it is reasonable to surmise that hormonal differences are established early in larval life. A relationship between nutritional and hormonal factors should therefore be sought in the early larval instars. There is as yet little histological evidence of differences in endocrine activity between queen and worker larvae at this time.

Both worker and queen larvae one day old have well developed corpora allata (Pflugfelder, 1948; Thomsen, 1954; Lukoschus, 1955a). The corpora cardiaca, however, are more or less loose strings of cells (Schaller, 1950; L'Hélias, 1950), and it is difficult to consider them as significant organs for either storage or release of hormone. Moreover the young larvae do not as yet have typical neurosecretory cells in the brain (Dixon and Shuel, 1959). The protocerebrum which later contains the neurosecretory cells shows, in the very young larvae, large undifferentiated cells with nuclei containing disorganized clumps of nuclear material. These cells were first described by Nelson (1924) as "degenerating cells".

Initially, dietary factors might be expected to cause hormonal differences: subsequently the hormonal differences might in their turn affect the utilization of nutrients. There are known examples of nutrition causing morphological effects which resemble changes induced by experimental interference with the hormone balance of insects. In *Ephestia*, for example, a protein deficiency can cause a supernumary larval moult instead of a pupal moult (Kühn, 1955). A protein deficiency may also check development of the corpora allata and the prothoracic glands of the honeybee (Mussbichler, 1952).

Nutrition could conceivably influence hormonal balance by imposing limitations either on the supply of essential nutrients or the synthesis and functioning of the enzyme systems involved in the development of the endocrine organs. Pfeiffer (1945) for example demonstrated the role of the corpora allata in the mobilization of both proteinaceous and fatty materials in female grasshoppers, and Wang and Dixon (1960) showed that extirpation of the corpora allata of the female cockroach reduced transaminase activity. Another possible dietary factor is a deficiency in the worker jelly of a vitamin or other substance functioning as a co-enzyme, as for example pantothenate or biopterin. L'Hélias (1955) has adduced evidence for the presence of folic acid, chemically related to biopterin, in the pars intercerebralis of *Carausius* and *Clitumnus*, and has postulated an uncoupling effect of folic acid on cell division (L'Hélias, 1957).

The hypothesis that a difference in hormone balance established during early larval life is the intermediary factor linking nutrition to dimorphism is consistent with present evidence and is amenable to experimental test. Comparative studies of the endocrine organs might reveal the potential for the establishment of hormonal differences. Following this, it would be logical to attempt to simulate patterns of development on natural diets by altering hormone balance experimentally, as for example by the extirpation of endocrine organs or the implantation of extra organs. An early criterion of differentiation towards queen or worker would be helpful. Two possible criteria are respiration and tissue composition. Experiments could be performed using both worker larvae on worker jelly and queen larvae on royal jelly.

Finding the dietary factor which initiates the series of events culminating in a dichotomy of form might be more difficult. The most direct

approach would involve the development of a chemically defined diet. The results of rearing experiments by Weaver (1956), Smith (1959), and Jay (1959) strongly suggest the involvement of a critical substance which is either volatile or unstable. Obviously the total quantity of food available to queen and worker larvae respectively during the first 3 days is not a factor in the initiation of caste differences. After this period, however, the food supply may contribute to the enhancement of these differences.

Precise data on the interrelationships of quantity of food ingested, length of the developmental period, size attained, and form, would be of great value. In nature the queen develops more rapidly and is much larger. Haydak (1943) suggested that partial inanition of the worker might influence internal secretion which in turn would affect growth and development. Jay (1959) found that the size attained by larvae at defecation was inversely correlated with the duration of the larval stadium, a situation reminiscent of the ants (Brian, 1954-56) and the termites (Buchli, 1958). Smith (1959), however, obtained some queens from comparatively small larvae, and Fyg (1959) has stated that dwarf queens may appear in periods of food scarcity. Eckert (1934) found no correlation between body weight and the number of ovarioles in adult queens.

In view of the marked biochemical differences between castes found by Melampy et al (1940), information on nitrogen and lipid contents of experimental larvae obtained in conjunction with quantitative data on food ingestion, might be enlightening.

Perhaps not of primary importance in determining caste, but nonetheless striking, are the "retrogressive" changes occurring in the reproductive organs of the worker following modification of the diet. The degree of regulation to which the process is subjected once initiated, would provide an interesting study. The possible influence of queen substance could be evaluated by adding it to an artificially modified worker jelly.

For the ultimate factors in the causal sequence leading to female dimorphism one must look beyond the physiology of the developing larvae to the physiology and behaviour of the nurse bees of the previous generation. What is the stimulus that causes nurse bees to elaborate worker jelly rather than royal jelly, and to add honey to the secretion supplied to the older worker larvae? If the distribution of nursing activities is essentially random and not correlated with the age of nurse bees or larvae, as Lindauer (1953) and Free (1960) have found, how is qualitative variation of the salivary secretion accomplished?

The evolutionary aspects of female dimorphism are also intriguing: Rhein (1933, 1950-51, 1956) regards the worker as the normal form, whereas Lukoschus (1956a) considers the queen to be the normal form. The functional deficiencies in the two forms are complementary, the worker lacking the ability to perpetuate the species, and the queen the ability to nourish the brood, although she possesses vestigial hypopharyngeal glands. It would therefore seem more reasonable to regard the two forms as end-products of two lines of divergence from the original form (Gontarski, 1941).

Finally, there is the relationship of caste differentiation in *Apis mellifera* to caste differentiation in other genera and species. In the honeybee a complex of events has been noted. In wasps and bumblebees, by contrast, a higher ratio of nurses to brood, resulting in more abundant feeding, appears to achieve a similar result (Light, 1943; Free and Butler, 1959).

Summary.

1. Histological, nutritional, and biochemical studies relating to female caste differentiation in *Apis mellifera*, L. are reviewed. Development of the worker larva evidently comprises two distinct phases, delimited by the addition of honey to the diet by nurse bees around the third or fourth day of the larval stadium. Comparisons between workers and queens may conveniently be related to these phases.

2. The dichotomy between castes appears to be initiated during the first phase and consummated in the second. There can be little doubt that nutrition is the major extrinsic factor in caste establishment. The identity of the dietary factor initiating the series of events culminating in female dimorphism has not been established. The results of many rearing experiments strongly suggest the involvement of a substance which is either volatile or unstable.

3. The mode of action of the dietary factor likewise is unknown. It is suggested that a difference in hormonal balance between castes is established in early larval life and is the intermediary factor linking nutrition to dimorphism. Caste differences in the endocrine system are known to exist by the fourth or fifth day of larval life; the earlier instars should now be examined for a relationship between nutritional and hormonal factors.

Zusammenfassung.

1. Histologische, ernährungsmässige und biochemische Studien in Verbindung mit weiblichen Kastenmerkmalen in *Apis mellifera* L., werden besprochen.

Die Entwicklung der Arbeiterinnen-Larve umfasst zwei sichtlich verschiedene Phasen, deren Abgrenzung durch Zugabe von Honig zur Nahrung durch Ammenbienen, ungefähr am 3. oder 4. Tag des Larvenstadiums erfolgt. Vergleiche zwischen Arbeiterinnen und Königinnen können zweckmässiger Weise mit diesen Phasen verbunden werden.

2. Die Unterteilung zwischen den Kasten beginnt augenscheinlich während der ersten Phase und wird in der zweiten vollendet. Zweifellos ist die Ernährung der Hauptfaktor in der Kastenbestimmung. Die Identität des Ernährungsfaktors, der diese Vorgänge, welche in der weiblichen Dimorphose enden, veranlasst, ist noch nicht bekannt. Die Ergebnisse

vieler Aufzuchtversuche weisen stark darauf hin, dass eine Substanz, flüchtiger oder instabiler Art, daran beteiligt ist.

3. Die Art und Weise des Ernährungsfaktors ist ebenfalls unbekannt. Es wird vermutet, dass eine Veränderung im hormonalen Gleichgewicht der Kasten im frühen Larvenstadium stattfindet. Dies ist der Zwischenfaktor, der die Ernährung mit der Dimorphose verbindet. Es ist bekannt, dass Kastenunterschiede im innersekretorischen System am 4. oder 5. Tage des Larvenstadium vorhanden sind. Die vorangegangenen Larvenstadien müssten nun untersucht werden, um festzustellen, ob eine Verbindung zwischen Ernährungs- und Hormonfaktoren besteht.

Résumé.

1. Une revue est faite des études histologiques, nutritionnelles et biochimiques concernant la différenciation des castes de la femelle *Apis mellifera*, L. Évidemment le développement de la larve ouvrière comprend deux phases distinctes délimitées par l'addition du miel au régime par l'abeille nourricière durant la troisième ou quatrième journée du stade larvaire. Des comparaisons entre l'ouvrière et la reine peuvent aussi être faites en relation avec ces phases.

2. La dichotomie entre les castes semble commencer durant la première phase et se terminer durant la seconde. Il ne fait pas de doute que la nutrition est un facteur extrinsèque majeur dans l'établissement d'une caste. On n'a pas établi la nature du facteur diététique commençant la série d'événements dont l'aboutissement est le dimorphisme de la femelle. Le résultat de plusieurs expériences d'élevage suggère fortement l'implication d'une substance qui est soit volatile soit instable.

3. On ne connaît pas non plus le mode d'action du facteur diététique. Il a été suggéré qu'il existe une différence entre les castes dans la balance des hormones au début de la vie larvaire et que cette balance est le facteur intermédiaire reliant la nutrition au dimorphisme.

Il est reconnu qu'à la quatrième ou cinquième journée de la vie de la larve, il existe dans le système endocrine des différences de caste; les stades plus jeunes devraient être examinés maintenant en vue de découvrir une relation entre les facteurs nutritifs et hormonaux.

REFERENCES

1955. ABBOTT (O. D.). — Royal Jelly (mimeographed report, College of Agriculture, Univ. of Florida, Gainesville, Florida).
 1950. ALTMANN (G.). — Ein Sexualwirkstoff bei Honigbienen (Ztschr. f. Bienenf., **1**, 24-32). — 1952. Die Lokalisation der Sexualwirkstoffe bei der Honigbiene (Ztschr. f. Bienenf., **1**, 124-127). — 1953. Weitere Untersuchungen über den Wasserhaushalt der Honigbiene (Ztschr. f. Bienenf., **2**, 59-66). — 1955. Hormonal Steuerung des Wasserhaushaltes der Honigbiene (Verb. Dtsch. Zool. Gesell., Erl., **1**, 107-112). — 1956. Die Regulation des Wasserhaushaltes der Honigbiene (Insectes sociaux, **3**, 33-40).

1957. AMMON (R.), ZOCH (E.). — Zur Biochemie des Futtersaftes der Bienenkönigin (*Arzneimittel-Forsch.*, **7**, 699-702).
1959. BARKER (S. A.), FOSTER (A. B.), LAMB (O. C.). — Biological origin and configuration of 10-hydroxy- Δ^2 -decanoic acid (*Nature*, **184**, 634).
1925. BERTHOLF (L. M.). — The moults of the honeybee (*J. econ. Ent.*, **18**, 380-384).
1956. BIER (K.). — Arbeiterinnenfertilität und Aufzucht von Geschlechtstieren als Regulationsleitung des Ameisenstaates (*Insectes sociaux*, **3**, 177-184).
1958. BLACKITH (R. E.). — An analysis of polymorphism in social wasps (*Insectes sociaux*, **5**, 263-272).
- 1954-1956. BRIAN (M. V.). — Studies of caste differentiation in *Myrmica rubra* L. 1. The growth of queens and males (*Insectes sociaux*, **1**, 101-122). — The growth of workers and intercastes (*ibid.*, **2**, 1-34). — Larval dormancy, winter size and vernalisation (*ibid.*, **2**, 85-114). — Controlled larval nutrition (*ibid.*, **3**, 369-394). — 1957. Caste determination in social insects (*Ann. Rev. Ent.*, **2**, 107-120).
1959. BROWN (W. A.), FREURE (R. J.). — Some carboxylic acids present in royal jelly (*Can. J. Chem.*, **37**, 2042-2046).
1958. BUCHLI (H. R.). — L'origine des castes et les potentialités ontogéniques des termites Européens du genre, *Reticulitermes* Holmgren (*Ann. Sci. nat. (Zool.)*, **20**, 263-429).
1957. BUTENANDT (A.), REMBOLD (H.). — Ueber den Weiselzellenfuttersaft der Honigbiene II. Isolierung, Konstitutionsermittlung und Vorkommen der 10-Hydroxy- Δ_2 -decensäure (*Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie*, **308**, 284-289). — 1958. Ueber den Weiselzellenfuttersaft der Honigbiene II. Isolierung von 2-amino-4-Hydroxy-6-(1, 2 dihydroxypropyl) pteridin (*Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie*, **311**, 79-83).
1954. BUTLER (C. G.). — The method and importance of the recognition by a colony of honeybees (*A. mellifera*) of the presence of its queen (*Trans. Roy. ent. Soc. London*, **105**, 11-29). — 1956. Some further observations on the nature of "queen substance" and of its role in the organization of a honey-bee (*Apis mellifera*) community (*Proc. Roy. ent. Soc. London*, **31**, 12-16). — 1957. The process of queen supersedure in colonies of honeybees (*Apis mellifera* Linn.) (*Insectes sociaux*, **4**, 211-223). — 1957. The control of ovary development in worker honeybees (*Apis mellifera*) (*Experientia*, **13**, 256-261).
1958. BUTLER (C. G.), GIBBS (D. A.). — The inhibition of queen rearing by feeding queenless worker honeybees (*Apis mellifera*) with an extract of queen substance (*J. Ins. Physiol.*, **2**, 61-64).
1958. BUTLER (C. G.), SIMPSON (J.). — The source of the queen substance of the honeybee (*Apis mellifera* L.) (*Proc. Roy. ent. Soc. London*, **33**, 120-122).
1959. BUTLER (C. G.), CALLOW (R. K.), JOHNSTON (N. C.). — Extraction and purification of queen substance from queen bees (*Nature*, **184**, 1871).
1959. CALLOW (R. K.), JOHNSTON (N. C.), SIMPSON (J.). — 10-hydroxy- Δ^2 -decanoic acid in the honeybee (*Apis mellifera*) (*Experientia*, **15**, 421-424).
1960. CALLOW (R. K.), JOHNSTON (N. C.). — The chemical constitution and synthesis of queen substance of honeybees (*Bee World*, **41**, 152-153).
1956. CARLISLE (D. B.), BUTLER (C. G.). — The "queen substance" of honeybees and the ovary-inhibiting hormone of crustaceans (*Nature*, **107**, 275-277).
1934. CASTLE (G. B.). — The experimental determination of cast differentiation in termites (*Science*, **80**, 314).
1958. DIXON (S. E.), SHUEL (R. W.). — Studies on the mode of action of royal jelly in honeybee development, I. Changes occurring in fresh royal jelly determined by Cartesian diver respirometry (*Can. J. Zool.*, **36**, 197-204). — 1959. (*Unpublished data.*)
1934. ECKERT (J. E.). — Studies in the numbers of ovarioles in queen honeybees in relation to body size (*J. econ. Ent.*, **27**, 629-635).
1950. FLANDERS (S. E.). — Regulation of ovulation and egg disposal in parasitic Hymenoptera (*Can. Ent.*, **82**, 134-140).

1956. FORMOGONI (A.). — Neurosécrétion et organes endocrines chez *Apis mellifica* L. (*Ann. Sci. nat. [Zool.]*, **11**, 283-291).
1959. FREE (J. B.), BUTLER (C. G.). — *Bumblebees* (Collins, London, 208 pp.).
1960. FREE (J. B.). — The distribution of bees in a honeybee colony (*Unpublished*).
1956. FYG (W.). — Experimentelle Untersuchungen über die Entwicklung der Honigbiene (*Mittl. Schweiz. ent. Ges.*, **29**, 404-416). — 1959. Normal and abnormal development in the honeybee (*Bee World*, **40**, 57-66, 85-96).
1957. GOILLOT (C.). — Étude physique de la conservation de la gelée royale brute (*C. R. Séances de l'Académie des Sciences*, **245**, 1082-1084).
1941. GONTARSKI (H.). — Ueber die Zwischenform von Königin und Arbeiterin im Staate der Honigbiene (*Apis mellifica*). Beitrag zur stammesgeschichtlichen Entwicklung der Königin (*Ztschr. wiss. Zool.*, **154**, 345-356).
1942. GREGG (R. E.). — The origin of caste in ants with special reference to *Pheidole monisi* Forel (*Ecology*, **23**, 295-308).
1954. GROOT (A. P. de), VOOGD (S.). — On the ovary development in queenless worker bees (*Apis mellifica* L.) (*Experientia*, **10**, 384-389).
1959. HABOWSKY (J. E. J.), SHUEL (R. W.). — Separation of the protein constituents of the larval diets of the honeybee by continuous paper electrophoresis (*Can. J. Zool.*, **37**, 957-964).
1960. HANSEN (G.), REMBOLD (H.). — Ueber den Weiselzellenfuttersaft der Honigbiene IV, Jahreszeitliche Veränderungen im Bioproteininhalt des Arbeiterinnenfuttersaftes (*Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie*, **319**, 200-205).
1943. HAYDAK (M. H.). — Larval food and development of castes in the honeybee (*J. econ. Ent.*, **36**, 778-792).
1950. HAYDAK (M. H.), VIVINO (A. E.). — The changes in the thiamine, riboflavin, niacin, and pantothenic acid content in the food of female honeybees during growth with a note on the vitamin K activity of bee bread (*Ann. ent. Soc. Amer.*, **43**, 361-367).
1959. HAYDAK (M. H.). — (*Recommendation to American Committee, Bee Research Association, Detroit, U. S. A.*)
1942. HESS (G.). — Ueber den Einfluss der Weisellosigkeit und des Fruchtbarkeitsvitamins E auf die Ovarie der Bienenarbeiterin (*Bech. Schweiz. Bienenztg.*, **1**, 33-109).
1956. HOFFMANN (I.). — Die Aufzucht weiblicher Bienenlarven (*Apis mellifica* L.) ausserhalb des Volkes (*Zeitschr. Bienenforsch.*, **3**, 134-138).
1956. JACOLI (G.), POGGIOLI (A.). — Ricerche sulla composizione e sul contenuto in vitamina della gelatina reale delle zona Emilia-Romagna (*Boll. Soc. Ital. Bio. Sper.*, **32**, 6-8).
1959. JAY (S. C.). — *Factors affecting the laboratory rearing of honey bee larvae (Apis mellifera L.)* (M. S. A. Thesis, Univ. of Toronto).
1955. JOHANNSON (T. S. K.). — Royal jelly (*Bee World*, **36**, 3-13, 21-32).
1958. JOHANNSON (T. S. K.), JOHANNSON (M. P.). — Royal jelly II (*Bee World*, **39**, 254-264, 277-286).
1924. KESTNER (O.), PLAUT (R.). — (*Winterstein's Handbuch d. vergl. Physiol.*, **2**, 901-975).
1931. KRATKY (E.). — Morphologie und Physiologie der Drüsen in Kopf und Thorax der Honigbiene (*Apis mellifica* L.) (*Ztschr. f. wissenschaft. Zool.*, **139**, 120-200).
1955. KUHN (A.). — *Vorlesungen über Entwicklungsphysiologie* (p. 355-369, Springer, Berlin, 506 p.).
1950. L'HÉLIAS (C.). — Étude des glandes endocrines post-cérébrales et du cerveau de la larve d'*Apis mellifica* (*Bull. Soc., Zool. France*, **75**, 70-74). — 1952. Étude de la glande prothoracique chez la larve d'*Apis mellifica* (Hyménoptère) (*Bull. Soc. Zool., France*, **77**, 191-195). — 1955. Recherches préliminaires sur les hormones du cerveau et du complexe post-cérébral des Phasmes *Carausius morosus* et *Cuniculina cuniculina* (*C. R. Acad. Sci.*, **240**, 1114-1143). — 1957. Tumeurs d'insectes provoquées par l'acide folique (*C. R. Acad. Sci.*, **244**, 1678-1680).

1943. LIGHT (S. I.). — The determination of the castes of social insects (*Quart. Rev. Biol.*, **17**, 312-326 ; **18**, 46-63).
1953. LINDAUER (M.). — Division of labour in the honeybee colony (*Bee World*, **34**, 63-73, 85-90).
1924. LINEBURG (B.). — The feeding of honeybee larvae (*Bull. U. S. Dept. Agr.*, **1222**, 25-37).
1959. LINGENS (F.), REMBOLD (H.). — Ueber den Weiselzellenfuttersaft der Honigbiene III. Vitamingehalt von Königinnen und Arbeiterinnenfuttersaft (*Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie*, **314**, 141-146).
1952. LUKOSCHUS (F.). — Ueber die Prothoraxdrüse der Honigbiene (*Apis mellifica* L.) (*Naturwiss.*, **39**, 116). — 1955. Untersuchungen zur Metamorphose der Honigbiene (*Apis mellifica* L.) (*Insectes sociaux*, **2**, 147-162). — 1955. Die Bedeutung des innersekretorischen Systems für die Ausbildung epidermaler Kastenmerkmale bei der Honigbiene (*Apis mellifica* L.) (*Insectes sociaux*, **2**, 221-236). — 1956. Zur Kastendetermination bei der Honigbiene (*Ztschr. f. Bienenforschung*, **3**, 190-198). — 1956. Untersuchungen zur Entwicklung der Kastermerkmale bei der Honigbiene (*Apis mellifica* L.) (*Ztschr. Morph. u. Oekol. Tiere*, **45**, 157-197).
1956. LUSCHER (M.). — Die Entstehung von Ersatzgeschlechtstieren bei der Termiten *Kaloterms flavicollis* Fabr. (*Insectes sociaux*, **3**, 119-128).
1954. MAURIZIO (A.). — Pollenernährung und Lebensvorgänge bei der Honigbiene (*Apis mellifica* L.) (*Landw. Jahrb. Schweiz.*, **68**, 115-182).
1939. MELAMPY (R. M.), WILLIS (E. R.). — Respiratory metabolism during larval and pupal development of the female honeybee (*Apis mellifica* L.) (*Physiol. Zool.*, **12**, 302-311).
1940. MELAMPY (R. M.), WILLIS (E. R.), MCGREGOR (S. E.). — Biochemical aspects of the differentiation of the female honeybee (*Apis mellifera* L.) (*Physiol. Zool.*, **13**, 283-293).
1941. MICKEY (G. H.), MELAMPY (R. M.). — Cytological studies on fat cells in the larval honeybee (*Apis mellifera* L.) (*Anat. Rec.*, **81**, Suppl. 53).
1930. MILUM (V. G.). — Variations in time of development of the honeybee (*J. econ. Ent.*, **23**, 441-447).
1951. MITCHENER (C. D.), MITCHENER (M. H.). — *American social insects* (D. van Nostrand Co., Inc. New York, 267 pp.).
1952. MUSSBICHLER (A.). — Die Bedeutung äusserer Einflüsse und der Corpora allata bei der Afterweiselentstehung von *Apis mellifica* (*Ztschr. vergl. Physiol.*, **34**, 207-221).
1924. NELSON (J. A.). — Morphology of the honeybee larva (*J. agr. Res.*, **28**, 1167-1213).
1924. NELSON (J. A.), STURTEVANT (P.). — The rate of growth of the honeybee larva (*Bull. U. S. Dept. Agr.*, **1222**, 1-24).
1954. PAIN (J.). — La « substance de fécondité » dans le développement des ovaires des ouvrières d'abeilles (*Apis mellifica* L.) (*Insectes sociaux*, **1**, 59-70). — 1955. Influence des reines mortes sur le développement ovarien des jeunes ouvrières d'abeilles (*Apis mellifica*) (*Insectes sociaux*, **2**, 35-43). — 1956. Sur l'ectohormone des reines d'abeilles (*Insectes sociaux*, **3**, 199-202). — 1956. Mesure de pouvoir inhibiteur et de l'attractivité de l'ectohormone des reines d'abeilles (*C. R. Acad. Sci. Paris*, **242**, 1080-1082).
1960. PATEL (N. G.), HAYDAK (M. H.), GOCHNAUER (T. A.). — Electrophoretic components of the proteins in honeybee larval food (*Nature*, **186**, 633-634).
1945. PFEIFFER (I. W.). — Effect of the corpora allata on the metabolism of adult female grasshoppers (*J. exp. Zool.*, **99**, 183-233).
1948. PFLUGFELDER (O.). — Volumetrische Untersuchungen an der Corpora allata der Honigbiene, *Apis mellifica* L. (*Biol. Zentralbl.*, **67**, 223-241).
- 1888-1889. PLANTA (A. V.). — Ueber den Futtersaft der Bienen (*Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie*, **12**, 327-354 ; **13**, 552-561).
1949. PRATT (J. J.), HOUSE (H. L.). — A qualitative analysis of the amino acids in royal jelly (*Science*, **110**, 9-10).

1939. REHM (E.). — Die Innervation der inneren Organe von *Apis mellifica* (Ztschr. morph. Oekol. Tiere, **36**, 89-122).
1933. RHEIN (W. v.). — Ueber die Entstehung des weiblichen Dimorphismus in Bienenstaaten (Wilh. Roux Arch. f. Entwicklungsmechanik der Organismen, **129**, 601-665). — 1950-1951. Ueber die Entstehung des weiblichen Dimorphismus im Bienenstaat und ihre Beziehung zum Metamorphoseproblem (Verh. Dtsch. zool. Ges., **99**, 101). — 1956. Ueber die Ernährung der Arbeiterin von *Apis mellifica* L., insbesondere in der Altersperiode (*Insectes sociaux*, **3**, 203-212).
1953. RIBBANDS (R.). — *The behaviour and social life of honeybees* (Bee Res. Assoc. Ltd., London, 352 pp.).
1937. SALT (G.). — The egg-parasite of *Sialis lutaria*: a study of the influence of the host upon a dimorphic parasite (*Parasitology*, **29**, 539-553). — 1952. Trimorphism in the ichneumonid parasite *Gelis* (*Quart. J. micr. Sci.*, **93**, 453-474).
1950. SCHALLER (F.). — Étude morphologique du complexe endocrine rétro-cérébral de la larve d'abeille (*Apis mellifica* L.) (*C. R. Soc. Biol., Paris*, **144**, 1097-1100). — 1951. Réalisation des caractères des castes au cours de développements perturbés chez l'abeille (*Apis mellifica* L.) (*C. R. Soc. Biol. Paris*, **145**, 1351-1354). — 1952. Effets d'une ligature post-céphalique sur le développement de larves âgées d'*Apis mellifica* L. (*Bull. Soc. Biol. France*, **77**, 195-204).
1945. SCHARER (E.), SCHARER (B.). — Neurosecretion (*Physiol. Rev.*, **25**, 171-181).
1939. SCHMIEDER (R. G.). — The significance of the two types of larvae in *Sphecocephala bursa* (Cressin) and factors concerning them (*Ent. News*, **50**, 125-131).
1959. SHUEL (R. W.), DIXON (S. E.). — Studies in the mode of action of royal jelly in honeybee development II. Respiration of newly emerged larvae on various substrates (*Can. J. Zool.*, **37**, 803-813).
1955. SIMPSON (J.). — The significance of the presence of pollen in the food of worker larvae of the honey-bee (*Quart. J. micr., Sci.*, **96**, 117-120).
1959. SMITH (M. V.). — Queen differentiation and the biological testing of royal jelly (*Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Mem.*, **356**).
1956. SNODGRASS (R. E.). — *Anatomy of the honey-bee* (Comstock Publishing Associates, Ithaca, N.Y., 334 pp.).
1930. STABE (H.). — The rate of growth of worker, drone, and queen larvae of the honey-bee (*J. econ. Ent.*, **23**, 447-453).
1954. THOMSEN (M.). — Neurosecretion in some Hymenoptera [*Kongel. Danske Vidensk. Selskab Biol. Skr.*, **7** (5), 24 pp.].
1940. TOWNSEND (G. F.), LUCAS (C. C.). — The chemical nature of royal jelly (*Biochem. J.*, **34**, 1155-1162).
1955. VAGT (W.). — Morphologische Untersuchungen an Nachschaffungsköniginnen von *Apis mellifica*, die aus verschieden alten Larven gezüchtet wurden (Ztschr. f. Bienenf., **3**, 73-79).
1956. WADDINGTON (C. H.). — *Principles of embryology* (George Allen and Unwin, Ltd., London, 510 pp.).
1960. WANG (S. Y.), DIXON (S. E.). — Studies on the transaminase activity of muscle tissue from allatectomized roaches, *Periplaneta americana* (*Can. J. Zool.*, **38**, 275-283).
1951. WEAVER (N.), KUICKEN (K. A.). — Quantitative analysis of the essential amino acids of royal jelly and pollen (*J. econ. Ent.*, **44**, 635-638).
1955. WEAVER (N.). — The rearing of honeybee larvae on royal jelly in the laboratory (*Science*, **121**, 509-510). — 1956. Rearing honeybee larvae in the laboratory (*Proc. 10th. Intern. Cong. Ent.*, **4**, 1031-1036). — 1957. Effects of larval age on dimorphic differentiation of the female honeybee (*Ann. ent. Soc. Amer.*, **50**, 283-294). — 1957. Experiments in dimorphism in the female honeybee (*J. econ. Ent.*, **50**, 759-761).
1935. WEYER (F.). — Ueber drüsenartige Nervenzellen im Gehirn der Honigbiene *Apis mellifica* L. (*Zool. Anz.*, **112**, 137-141).
1928. WHEELER (W. M.). — *The social insects, their origin and evolution* (Harcourt, Brace, and Co. N.Y.).

1954. WIGGLESWORTH (V. B.). — *The physiology of insect metamorphosis* (Cambridge University Press, 152 pp.).
1953. WILSON (E. O.). — The origin and evolution of polymorphism in ants (*Quart. Rev. Biol.*, **28**, 136-156).
1916. ZANDER (E.), LÖSCHEL (F.), MEIER (K.). — Die Ausbildung des Geschlechtes bei der Honigbiene (*Apis mellifica* L.) (*Ztschr. f. angew. Ent.*, **3**, 1-74).
-

DES CONSIDÉRATIONS ÉCOLOGIQUES PEUVENT-ELLES APPORTER UNE CONTRIBUTION A LA CONNAISSANCE DU CYCLE BIOLOGIQUE DES COLONIES DE *CREMASTOGASTER* (HYMENOPTERA-FORMICOIDEA) ?

par
J. SOULIÉ

(Laboratoire d'Entomologie de la Faculté des Sciences de Toulouse, Laboratoires de Biologie animale de l'École royale de Médecine du Cambodge et du Collège scientifique universitaire de Tours.)

I. — APERÇUS SUR LE CYCLE BIOLOGIQUE DES *CREMASTOGASTER*

Bien que cela ne soit pas la partie essentielle de nos recherches et que nous n'ayons pu y consacrer que peu d'efforts, il nous a paru nécessaire (au fur et à mesure que nous pensions pouvoir tirer quelque conclusion d'une observation, d'un élevage ou d'une expérience), d'essayer d'éclairer un peu dans les détails le cycle biologique des espèces étudiées. Nous ne prétendons pas apporter une solution au problème de la différenciation des castes chez les Formicoidea (ou même seulement chez les Myrmicidæ, car il est possible qu'une solution unique ne soit pas valable pour les différentes familles du groupe suivant l'évolution biologique ou même « sociale » de la famille), mais il nous a paru possible de réunir les données assez éparées que nous avons pu recueillir chez les *Cremaastogaster* en une hypothèse assez cohérente dont malheureusement tous les points n'ont pu être confirmés (sans que cependant, jusqu'à présent, aucun ait été infirmé). Comme le dit le Dr Charles Oberling, Directeur de l'Institut du Cancer, dans son livre *Le Cancer* : « ... A ceux qui nous reprocheraient d'avoir pris trop ouvertement parti, nous dirons qu'on n'a jamais tort de se laisser guider par une hypothèse tant qu'elle n'est pas en contradiction avec les faits observés et que, ce qui juge le mieux de sa valeur, c'est la fécondité des recherches qu'elle suscite. »

L'hypothèse classique du cycle biologique d'une fourmilière est restée toujours celle de la Parthénogenèse arrhénotoque facultative des Hyménoptères avec différenciation dans le sexe femelle de castes fertiles (♀) et de castes infertiles (♂, 2). La clé de cette différenciation des castes femelles : qu'elle soit d'ordre trophique ou plus généralement physiologique, ou d'ordre génétique n'a encore pas été trouvée ou tout au moins prouvée sans réserves. La seule chose qui paraisse vraiment certaine et générale est que le sexe mâle est représenté par des organismes haploïdes (tout au

moins pour les cellules de la lignée germinale) et le sexe femelle par des organismes au moins diploïdes (♀ aussi bien que ♂).

Mais il semble bien que cette ancienne hypothèse, peut-être valable chez les Apiaires, s'écroule peu à peu sous les coups des Myrmecologues en ce qui concerne les fourmis. Une autre hypothèse (rejoignant celle formulée par MRAZEK en 1916) tend à se substituer à elle.

A. LEDOUX, en 1949, obtient une série de résultats qui mettent en évidence, chez *Oecophylla longinoda* Latr. :

1. Une parthénogenèse arrhénotoque facultative chez la femelle ailée (du type Hyménoptère classique).

2. Une parthénogenèse deutérotoque chez l'ouvrière aptère.

Nos propres recherches, moins poussées que celles de A. LEDOUX dans ce domaine (et sur une famille différente, les Oecophylles étant des *Formicidæ* et les Cremastogaster des *Myrmicidæ*) semblent confirmer, en partie tout au moins, cette façon de voir.

A. — DESCENDANCE DES FEMELLES.

1^o DESCENDANCE DE LA FEMELLE ISOLÉE FÉCONDÉE. — Nous avons pu constater que, chez les *Cremastogaster*, il est très difficile à la femelle isolée de réussir à fonder une colonie. Cependant les rares colonies de ce type rencontrées (*Cr. scutellaris*, dans des galles de Cynipides, dans des roseaux creux, dans de petites branchettes) ne comprennent jamais que des ouvrières (de taille inférieure à la normale). De même dans les élevages ayant réussi à donner, au moins des nymphes [nous n'avons pas pu trouver de caractères différentiels entre les jeunes larves de mâles, de femelles ou d'ouvrières (1)], nous n'avons jamais obtenu que des nymphes d'ouvrières. Toutes les femelles ayant pondu, dans nos élevages, étaient fécondées (spermatozoïdes dans la spermathèque).

Nous pouvons donc dire que la descendance *normale* d'une femelle essayante, fécondée, se compose uniquement d'ouvrières filles.

2^o DESCENDANCE DE LA FEMELLE NON FÉCONDÉE. — Dans le cas des *Cremastogaster* que nous avons pu étudier de ce point de vue (*Cr. scutellaris*, *Cr. vandeli*, *Cr. skounensis*) il n'y a pas de descendance car la femelle non fécondée n'a jamais pondu un seul œuf (même si elle a vécu longtemps) quand elle est isolée. Si même on la fait adopter par des ouvrières, nous avons vu qu'elle était expulsée ou massacrée.

Nous pouvons multiplier les exemples :

Cr. scutellaris. — Nous ne parlerons que des femelles, non fécondées (vérification après leur mort), n'ayant pas pondu après la rupture de la période de repos (hibernation), car, même chez les femelles fécondées, la ponte ne commence que quelque temps après la reprise d'activité.

(1) Et malheureusement, c'est souvent quand il n'existe que de très jeunes larves que la jeune colonie disparaît.

Élevage n° 23 : Le 18 janvier 1954, une femelle désailée (mais inféconde) est refoulée par les ouvrières d'une colonie bouturée. Elle est isolée et vit jusqu'au 31 août 1954, sans pondre. Cette femelle vivait dans le nid d'une colonie complète depuis le 15 octobre 1953.

Élevage n° 17 : Femelle désailée (1) isolée le 19 novembre 1953, morte le 7 avril 1954 sans avoir pondu.

Élevage n° 21 : Femelle ailée (1) isolée le 19 décembre 1953, morte le 17 mai 1954 sans avoir pondu.

Élevage n° 36 : Femelle désailée en élevage (récoltée ailée le 23 octobre 1954), morte sans avoir pondu le 5 juin 1955.

Élevage n° 37 : Femelle issue de nymphe récoltée le 23 octobre 1954 isolée le 16 décembre 1954. Mourante le 26 septembre 1955, n'a jamais pondu. (N'avait pas été fécondée car, après sa nymphose, n'avait vécu qu'en compagnie d'autres femelles issues elles aussi de nymphes).

Élevage n° 62 : Femelle ailée récoltée le 15 octobre 1955, mise en élevage avec des ouvrières d'une colonie bouturée. Massacrée le 21 octobre 1955 (non fécondée).

Élevage n° 62 (suite). Femelle ailée récoltée le 21 octobre 1955 rajoutée à la colonie bouturée le 2 novembre 1955. Massacrée immédiatement par les ouvrières (non fécondée).

Cr. auberti. — Mêmes résultats qu'avec *Cr. scutellaris*.

Élevage n° 25 : Une femelle récoltée le 15 octobre 1953 et élevée isolément est morte sans avoir pondu le 7 avril 1954. A la dissection sa spermathèque ne contenait pas de spermatozoïdes.

Cr. vandeli et *Cr. skounensis*. — Les exemples donnés concernent des femelles non fécondées (pas de spermatozoïdes dans la spermathèque après autopsie) recueillies dans le nid ou hors du nid (chassées à la fumée) pendant leur repos imbrinal, dans le nid ou sur le nid lors des sorties massives d'essaimage.

Élevage n° 110 : Sur cinq femelles ailées de *Cr. vandeli* récoltées le 8 juin 1957 et mortes du 9 au 21 juin, trois étaient fécondées et deux non fécondées. Il n'y a eu aucune ponte, les trois femelles fécondées étant mortes avant d'avoir eu le temps de pondre (des femelles fécondées récoltées en même temps mais ayant vécu plus longtemps ont, elles, pondu).

Nous obtenons des résultats analogues sur les élevages 112, 113, 116, 117, 118, 121, 122, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131 (aussi bien pour *Cr. vandeli* que pour *Cr. skounensis*).

Il semble donc que chez les *Cremastogaster* aussi bien européens qu'asiatiques, la femelle non fécondée est incapable de pondre. L'accouplement déclenche, sans doute, le processus des dernières phases de maturation des ovules chez la femelle (car aussi bien en France qu'au Cambodge il s'écoule un temps relativement long entre l'accouplement : avant l'hiver en France, au début de la saison des pluies au Cambodge, et la ponte : après l'hibernation en France, à la reprise d'activité au moment de l'essaimage au Cambodge (dans les conditions naturelles tout au moins).

(1) Les femelles ailées ou désailées, non fécondées, paraissent tolérées dans le nid de colonies populeuses (car il y a toujours possibilités de fécondation ultérieure), mais sont impitoyablement éliminées par les ouvrières de petites colonies bouturées.

Nous n'avons pas pu, aussi bien chez les espèces européennes que chez les espèces tropicales, mener à bien des élevages d'assez longue durée pour constater comme l'a fait A. LEDOUX chez les *Oecophylles* d'Afrique, l'existence d'une parthénogenèse arrhénotoque chez la femelle ayant épuisé sa provision de spermatozoïdes. Mais ceci, qui existe peut-être chez les *Cremastogaster* aussi, n'infirme en rien notre hypothèse. Il y a eu accouplement antérieur (à la ponte d'œufs normaux fécondés, puis d'œufs anormaux non fécondés) qui a suffi à déclencher les processus de maturation ovulaire. On pourrait donc dire que chez les femelles de *Cremastogaster* il y a *Parthénogenèse arrhénotoque facultative* mais seulement *accidentelle*.

B. — PONTE DES OUVRIÈRES.

Un certain nombre d'auteurs ont noté des pontes chez les ouvrières de diverses espèces de fourmis et les résultats qu'ils ont observé sont assez divergents. LESPES (1) (1863) affirme que les œufs d'ouvrières de diverses espèces (les pontes étant exceptionnelles) n'arrivent jamais à maturité. FOREL (2) a observé des pontes d'ouvrières et une ou deux fois a obtenu des jeunes à partir de ces œufs mais dans ce cas tous ces jeunes n'ont donné que des mâles. DEWITZ (3), lui, affirme que chez les ouvrières de fourmis, la ponte est habituelle (avec production de mâles). Les observations les plus suivies ont été faites par J. LUBBOCK (4) :

Formica cinerea. — Dans un nid, à partir de pontes d'ouvrières, obtient 15 mâles en 1876 et 12 mâles en 1877.

Lasius niger. — 1^{er} nid : 100 mâles (1876) et 14 mâles (1878) ; 2^e nid : 1 mâle (1878) ; 3^e nid : 3 mâles (1879) ; 4^e nid : 7 mâles (1879).

Formica fusca. — 1^{er} nid : 1 mâle (1878) ; 2^e nid : 3 mâles (1878) ; 3^e nid : 1 mâle (1878) ; 4^e nid : 3 mâles (1879) ; 5^e nid : 1 mâle (1879).

Polyergus rufescens. — 1^{er} nid : 11 mâles (1879).

Les ouvrières non stériles paraissent donc à la lumière de ces observations pondre des œufs d'où ne peuvent sortir que des mâles (organismes fondamentalement haploïdes, la diploïdie de leur lignée somatique résultant sans doute d'un mécanisme régulateur postérieur).

Les résultats obtenus par A. LEDOUX, en 1949, avec *Oecophylla smaragdina* sont fondamentalement différents. Il y a ponte habituelle chez les ouvrières de cette espèce. Les ouvrières pondent deux sortes d'œufs : de petits œufs qui se développent ultérieurement en ouvrières ou en femelles ailées et de gros œufs (plus exceptionnels) qui donnent des mâles. Il y a donc parthénogenèse deutérotoque chez les ouvrières d'*Oecophylle* (LEDOUX démontrant que dans le cas de ponte aussi bien de petits œufs que de gros œufs il n'y a pas eu fécondation des ouvrières fertiles).

(1) LESPES, *Ann. des Sciences naturelles*, 1863.

(2) FOREL, *Les fourmis de la Suisse*, p. 329.

(3) DEWITZ, *Zeit. f. Wiss. Zool.*, vol. XXVIII, p. 536.

(4) LUBBOCK, *Fourmis, abeilles et guêpes* (1883), t. I, pp. 35 sqq.

Déjà REICHENBACH en 1892, WHEELER en 1903 et CRAWLEY en 1912 avaient signalé avoir obtenu des ouvrières à partir d'œufs pondus par des ouvrières et après développement parthénogénétique (chez *Lasius niger*). De plus, en 1892, TANNER chez *Atta cephalotes* avait obtenu des ouvrières, des mâles et des femelles à partir d'œufs pondus par les ouvrières.

Les seuls résultats proches de ceux-ci que nous ayons obtenu l'ont été chez *Cremastogaster auberti* et *Cr. scutellaris*. Malheureusement, nous n'avons pas pu les vérifier sur un nombre suffisant d'élevages pour les donner comme absolument concluants.

Une première difficulté provient de ce que tous les œufs pondus par les ouvrières de *Cremastogaster* sont morphologiquement semblables et tous à peu près de même taille. Nous n'avons pas pu établir de séries pouvant s'interpréter comme contenant de grands ou de petits œufs (les œufs ne diffèrent d'ailleurs pas de ceux pondus par les femelles fécondées).

Premier exemple. — Cr. auberti.

Une colonie complète avec femelle reine, ouvrières nombreuses et couvain est mise en élevage le 31 mai 1952. En août 1952, la femelle est trouvée morte. Au cours de l'été et de l'automne le couvain provenant d'œufs pondus par la femelle arrive progressivement à donner des imagos d'ouvrières ou disparaît.

Le 13 février 1953 l'élevage ne contenant plus que des ouvrières, sans couvain, est mis en étuve. Pendant tout le printemps et l'été les ouvrières ne sont pas dérangées et, le 21 août 1953, en ouvrant le nid, nous trouvons trois nymphes de mâles et une dizaine de grosses larves. Le 5 septembre 1953, quatre nymphes de mâles et le 24 septembre éclôt un mâle. De même, nous notons une autre éclosion de mâle le 12 novembre 1953 et, au moment de l'entrée en hibernation, le 30 décembre 1953, il y avait du couvain dans le nid : quelques petites larves.

Par la suite, cet élevage a été maintenu en activité forcée pendant l'hiver 1953-1954 et a disparu le 3 avril 1954, alors qu'il restait encore six larves provenant d'œufs d'ouvrières : trois grosses et trois petites. Nous avons pu observer d'autres exemples de ponte d'ouvrières dans la même espèce, mais les élevages ont disparu alors que le couvain n'était qu'à l'état de très jeunes larves et il ne nous était pas possible de savoir quel serait le devenir de ces larves ; en effet nous n'avons pas pu trouver de caractères différentiels au moment des premiers stades larvaires, entre les larves d'ouvrières, de femelles ou de mâles.

Ces résultats concordaient avec ceux de la plupart des auteurs : les ouvrières fertiles pondent des œufs parthénogénétiques qui se développent en mâles.

Deuxième exemple. — Il est beaucoup plus intéressant, car cet exemple démontre l'existence d'une parthénogenèse deutérotroque chez les ouvrières de *Cremastogaster scutellaris*.

Le 26 novembre 1953 nous procédons à un bouturage artificiel. Un certain nombre d'ouvrières et 2 femelles ailées sont prélevées sur une colonie âgée et florissante déjà en élevage depuis longtemps et sont isolées dans un aquarium contenant des débris végétaux et des abris divers. Le 27 novembre 1953, nous constatons que les deux femelles ailées ont disparu de l'élevage (enfui ou mortes). Les ouvrières sont groupées sous une boîte de carton (vieille boîte à lamelles) et ne manifestent aucune activité. Il n'y a absolument pas trace d'œufs ni de larves à ce moment là. La fourmière paraît entrée en hibernation. Du 25 janvier 1954 au 30 janvier 1954 nous essayons de rompre l'hiber-

nation artificiellement. Le 19 juin 1954 (après une série d'essais de rupture artificielle d'hibernation par passage à l'étuve à 24-26°, depuis le 20 mai) l'hibernation est rompue. Sous la boîte de lamelles, enfouies dans du coton, nous trouvons des larves déjà âgées. Le 30 juillet 1954, il y a toujours sous la boîte abri de grosses larves et trois nymphes de mâles. Le 3 août 1954 un grand nombre de nymphes de mâles (28), un grand nombre de larves à tous les stades et deux énormes larves (qui ne peuvent être que des larves de femelles à leur dernier stade) sont dénombrées. Le 9 août 1954, le nid est abandonné par suite de dérangements trop fréquents (journaliers ou presque pour la mesure des larves). Nous ne trouvons aucune trace dans l'aquarium, ni des ouvrières (qui étaient encore nombreuses), ni des larves, ni des nymphes. Le lendemain toute la colonie a été retrouvée (tous les individus morts) dans la poussière sous un meuble (mort par dessèchement sans aucun doute, les ouvrières n'ayant pas trouvé à temps un abri remplissant les conditions favorables).

La présence simultanée de nymphes de mâles et de larves de femelles montrent donc l'existence chez *Cr. scutellaris* d'une parthénogenèse (1) deutérotroque. D'autre part, certaines nymphes de mâles étant très avancées (nymphes brunes) alors que les femelles étaient à l'état de larves, l'apparition des mâles devait précéder l'apparition des femelles (nous verrons par la suite que ceci est confirmé dans la nature) (2).

Ces faits nous ont conduit à émettre l'hypothèse qui va faire l'objet du paragraphe suivant.

II. — HYPOTHÈSES SUR L'EXISTENCE D'UN CYCLE BIOLOGIQUE

Chez *Cremastogaster*, les castes femelles : ouvrières et femelles, sont des organismes provenant d'œufs diploïdes (au moins), et la caste mâle provient d'œufs haploïdes.

A. — DESCENDANCE DE LA FEMELLE.

Pour pouvoir entamer les processus de maturation de ses ovules, la femelle doit être fécondée. Comme elle est toujours soignée et alimentée par les ouvrières (avant sa fécondation, et avant son départ de la colonie : que l'essaimage précède le repos hivernal pour les *Cremastogaster* de France, ou suive le repos imbrinal, pour les *Cremastogaster* du Cambodge), la femelle est toujours dans des conditions trophiques suffisamment bonnes pour que les processus de maturation s'effectuent en totalité et aboutissent à des gamètes ayant subi la réduction chromatique (ovules à n chromosomes). Pendant tout le temps où sa spermathèque contient des spermato-

(1) Car ces ouvrières n'ont à aucun moment été en contact avec des mâles. La dissection de quelques-unes a montré quelques ovarioles fonctionnelles mais jamais la présence de spermatozoïdes dans les voies génitales. De plus nous n'avons pas trouvé de spermathèques, le tractus génital de l'ouvrière paraissant très régressé par rapport à celui des femelles.

(2) Nous avons obtenu des résultats concordants dans des élevages d'une espèce appartenant à un genre différent : *Aphaenogaster senilis* MAYR (= *testaceo-pilosa*, parte, EM.). Dans un élevage à partir de pontes d'♀ nous avons eu, à l'état d'imagos : 7 ♂ et 1 ♀.

zoïdes les œufs pondus par la femelle sont fécondés et donnent des organismes diploïdes, par conséquent appartenant aux castes femelles et nous avons vu qu'en fait ce sont toujours des ouvrières qui naissent de tels œufs. Quand, et c'est l'exception, la femelle a épuisé avant sa mort sa provision de spermatozoïdes, les gamètes à n chromosomes qu'elle produit (le processus de maturation, ayant été déclenché une fois pour toutes lors de l'accouplement) donnent des œufs à développement parthénogénétique qui se développent en organismes haploïdes, c'est-à-dire en mâles. Chez les

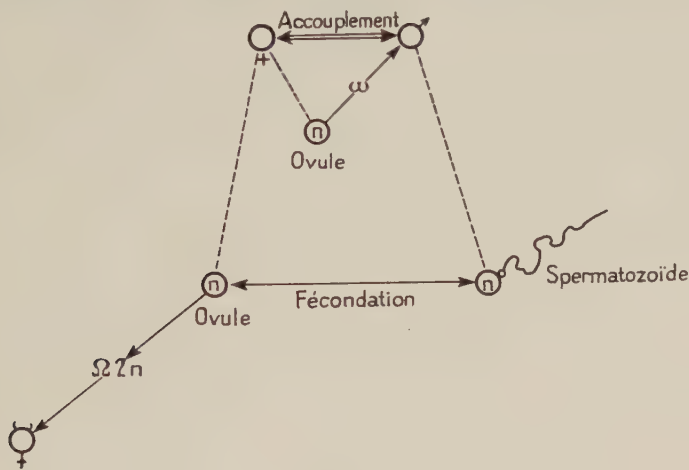


FIG. 1.

Cremastogaster la femelle présente donc une *Parthénogenèse arrhénotoque* du type Hyménoptère mais que nous avons qualifié d'*accidentelle*.

De la femelle nous obtenons donc deux types d'œufs génétiquement différents (1) : les œufs non fécondés à n chromosomes que nous représenterons par le symbole ω et des œufs fécondés à $2n$ chromosomes représentés par le symbole Ω .

B. — DESCENDANCE DES OUVRIÈRES.

Les ouvrières pondent deux types d'œufs correspondant à des différences dans les phénomènes de maturation des ovules. Si les ovules ont subi l'ensemble des divisions de maturation, dont la méiose, ils sont pondus à n chromosomes. Les œufs qui en proviennent se développeront parthénogénétiquement en organismes haploïdes, c'est-à-dire en mâles. Mais les ovocytes peuvent ne subir qu'une division (équationnelle) et ne sont pas réduits. Dans ce cas ils sont émis à $2n$ chromosomes et donneront naissance parthénogénétiquement à des organismes à $2n$ chromosomes, c'est-à-dire à des individus appartenant aux castes femelles, chez *Cremastogas-*

(1) Peut être morphologiquement dissemblables quand à la taille mais nous n'avons pas pu obtenir en élevage de tels œufs de ♀ donnant des ♂.

ter, des femelles ailées. Il y a impossibilité de fécondation chez les ouvrières par suite de modifications dans l'anatomie de l'appareil génital (modifications par régression ou bien peut-être l'appareil génital des ouvrières n'a-t-il jamais été organisé de façon à permettre la fécondation ou tout au moins ces modifications sont-elles extrêmement anciennes) (1).

Chez les ouvrières, on trouve donc une *Parthénogenèse deutérotoque constante*.

Nous pouvons remarquer que la différenciation en ouvrières et femelles à l'intérieur de la caste femelle s'explique aisément dans cette hypothèse.

Les deux formes de femelles proviennent toutes deux d'œufs diploïdes, mais la femelle naît d'un œuf parthénogénétique et reçoit son stock complet

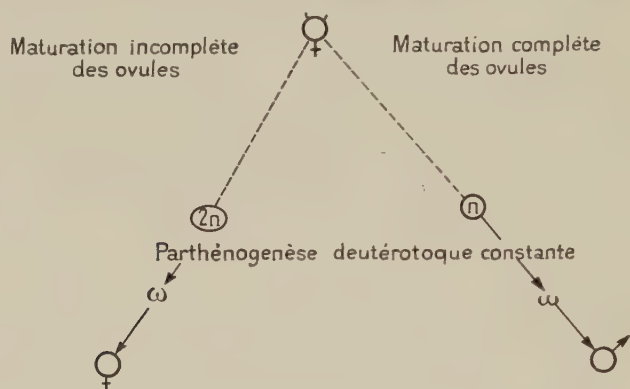


FIG. 2.

de chromosomes ($2n$) de l'ouvrière mère, alors que l'ouvrière naît d'un œuf fécondé et reçoit son stock de chromosomes en deux moitiés (une moitié paternelle provenant des mâles, une moitié maternelle venant de la femelle). Si l'on admet que l'amphimixie permet une certaine labilité pour l'espèce, par conséquent une meilleure adaptation aux conditions du milieu, il n'est pas étonnant que les femelles, issues de lignes pures, présentent des caractères de primitivité par rapport aux ouvrières (le phénomène est du même ordre pour les mâles).

En résumé, de l'ouvrière nous obtenons deux types d'œufs (2) : des œufs provenant d'ovules haploïdes que nous désignerons par le symbole ω et des œufs provenant d'ovules diploïdes désignés par le symbole Ω .

La maturation complète ou non des ovules par les ouvrières est sous la dépendance de facteurs trophiques. Si les conditions sont bonnes les ouvrières peuvent achever le cycle de maturation de leurs ovules et les émettent à n chromosomes. Si les conditions sont mauvaises elles ne peuvent terminer la maturation et les ovules sont émis avant réduction chromatique à $2n$ chromosomes. Il est d'autre part fort probable que les ouvrières ne sont fertiles que pendant une brève période de leur vie (vraisemblablement

(1) Cf. plus loin.

(2) Que nous n'avons pas pu différencier morphologiquement.

dans leur jeunesse). Si elles éclosent de nymphose à un moment où les conditions trophiques de la fourmilière sont particulièrement dures, le processus de maturation ne pourra même pas se déclencher et ces ouvrières deviendront stériles sans avoir pu pondre.

Cette variation des conditions trophiques est en relation avec le cycle d'activité annuel des colonies et explique la non simultanéité de l'apparition des mâles et des femelles.

Nous allons prendre comme exemple l'espèce que nous avons les mieux étudiée de ce point de vue : *Cr. vandeli*.

DANS LA NATURE. — Vers la fin novembre, les femelles ayant imbriné dans le nid effectuent leur vol d'essaimage. La population de larves est

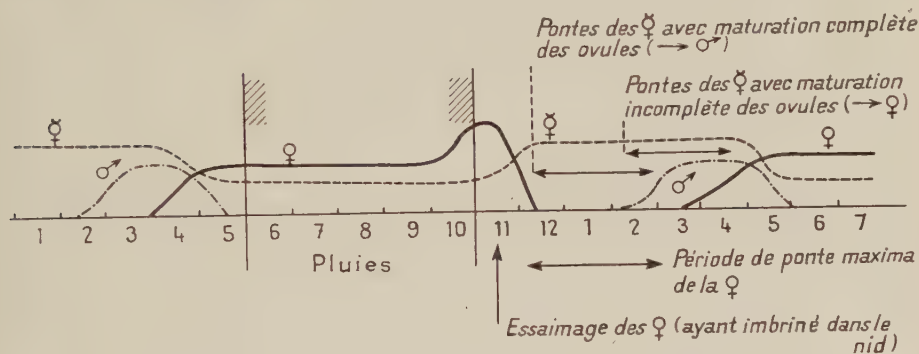


FIG. 3. — Nid normal dans la nature (avec repos pendant la saison des pluies).

stabilisée à son point le plus bas, la plupart ayant donné un peu avant le début de la saison des pluies les ouvrières jeunes qui ont remplacé les plus vieilles, éliminées au moment des grandes purges (1). Donc, au moment de la reprise d'activité de la colonie, nous avons des ouvrières jeunes, sortant d'une phase de repos complet (septembre-octobre) assez nombreuses et n'ayant à assurer l'entretien que d'une femelle reine (les femelles ailées sont parties) et d'une population larvaire peu nombreuse. Toutes les conditions trophiques optima pour les ouvrières sont réunies. Tous les œufs qu'elles pondent proviennent d'ovules complètement maturés et donnent naissance à des mâles qui commencent à apparaître vers la mi-février suivante. Mais au moment de la reprise d'activité la femelle reine recommence à augmenter son rythme de ponte qui rapidement devient maxima. La population larvaire de la colonie augmente. Il faut aussi pour les ouvrières soigner les larves de mâles provenant de leurs propres pontes. Les conditions trophiques pour les ouvrières deviennent de moins en moins bonnes. Elles ne pondent plus que des œufs provenant d'ovules non complè-

(1) Cf. Influence du repos imbrinal sur le cycle biologique de la fourmilière, in: J. SOULIÉ : Recherches écologiques sur les fourmis du genre *Cr.* de l'Europe, de l'Afrique du Nord et du Sud-Est asiatique. *A paraître*.

tement maturés, non réduits et, de ces œufs à 2 n chromosomes, vont provenir les femelles ailées qui commencent à apparaître au début d'avril (un mois et demi après les premiers mâles). Plus la population larvaire augmente plus les charges des ouvrières s'accroissent (et de plus elles vieillissent rapidement et épuisent leur stock ovulaire). Bientôt la ponte des ouvrières s'arrête. Cette ponte ne reprendra qu'au mois de novembre suivant, avec un nouveau contingent de jeunes ouvrières nées au début de la saison des pluies. Le cycle recommence.

En élevage. — Nous avons observé le même décalage, un peu moindre cependant entre l'apparition des mâles (fin février) et celle des femelles (fin mars). Mais de plus, en empêchant un élevage de prendre son repos imbrinal, nous avons hâté l'apparition de jeunes ouvrières (provenant de

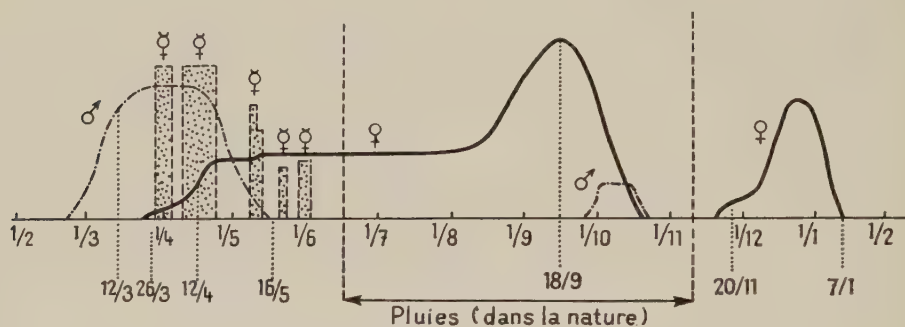


FIG. 4. — Nid en élevage (sans repos pendant la saison des pluies).

larves qui normalement restent à l'état de vie quasi-latente pendant les mois de septembre-octobre jusqu'à la reprise d'activité). Cela a entraîné une apparition prématurée de mâles (fin septembre) mais en petit nombre, puis de femelles (fin novembre) en nombre réduit aussi. Par contre, l'augmentation constante des charges des ouvrières dans la colonie est devenue telle (par suite de la ponte continue de la femelle non freinée par le repos) que ces ouvrières n'ont plus pondu par la suite et que l'apparition normale des mâles en février et des femelles en avril n'a pas eu lieu l'année suivante (alors que nous avons noté l'apparition d'ouvrières jeunes, provenant des pontes de la femelle reine, à la fin du mois d'avril).

EN RÉSUMÉ, chez les *Cremastogaster* aussi bien européens que tropicaux d'Asie, nous avons le cycle suivant :

Les ouvrières, par parthénogenèse deutérotique, donnent des mâles et des femelles.

Les femelles, après accouplement et fécondation, donnent des ouvrières qui rebouclent le cycle. Accidentellement, après épuisement de leurs réserves de spermatozoïdes, les femelles donnent des mâles par parthénogenèse arrhénotique.

Ceci explique la non réussite de bouturages naturels ou expérimentaux en l'absence de femelle fécondée. Les ouvrières fondatrices de ces colonies sont en général trop âgées pour pondre et sont devenues stériles. Il faut

une femelle fécondée qui fournira de nouvelles générations d'ouvrières jeunes, lesquelles à leur tour pourront produire des sexués.

C. — CONCLUSIONS.

On ne peut pas ne pas être frappé par la ressemblance entre le cycle ainsi défini et celui d'autres insectes appartenant au même ordre des Hymé-

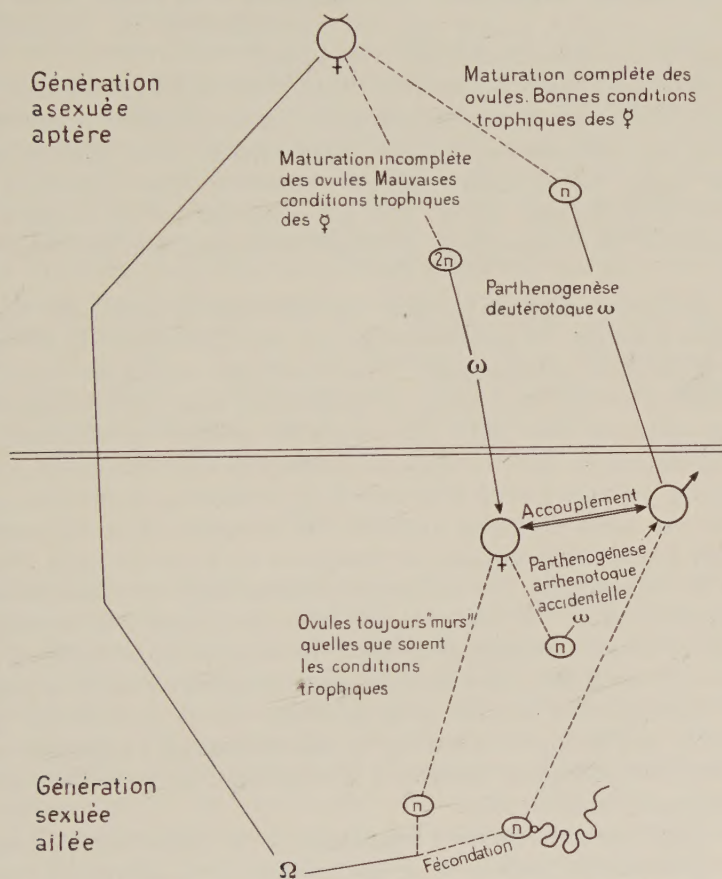


FIG. 5. — Représentation schématisée du cycle biologique des *Cremastogaster* ;

O = ovules. — $2n$; n = nombre de chromosomes.

Il existe trois types « génétiques » d'œufs.

ω = Œufs parthénogénétiques haploïdes qui donnent naissance à des mâles. — ω = Œufs parthénogénétiques diploïdes qui donnent naissance à des femelles. — Ω = Œufs diploïdes fécondés qui donnent naissance à des ouvrières.

noptères, mais non sociaux : Les Cynipides hétérogoniques (hétéro-cycliques).

Comme chez ces derniers nous pouvons déceler une alternance entre

Published in France.

Le Gérant : GEORGES MASSON.

Dépôt légal 1961 - 2^e trimestre - N^o d'ordre : 3443 - MASSON et C^{ie}, éditeurs, Paris.

Imprimé par l'Imp. CRÉTÉ Paris, Corbeil-Essonnes.
Dépôt légal 1961 - 2^e trimestre - N^o d'ordre : 2418.

NOTES POUR LES AUTEURS

- 1° *Insectes sociaux* publie des mémoires originaux, des notes ou des revues concernant les problèmes relatifs aux insectes sociaux.
- 2° Les auteurs reçoivent gratuitement 50 tirés à part.
- 3° Les manuscrits doivent être adressés à l'un des membres du Comité de rédaction.
- 4° Les textes remis pour l'impression doivent être dactylographiés. Leur forme sera considérée comme définitive, et leur étendue ne pourra pas dépasser 20 pages (28 lignes de 67 caractères par page), dactylographiées, illustration comprise.
- 5° Le secrétaire se réserve le droit de demander la suppression des figures dont le nombre serait jugé excessif. Les figures au trait sont à la charge de la revue. Les planches, les photographies sont à la charge des auteurs, à l'exception de celles que le secrétaire jugerait pouvoir prendre au compte de la revue. Les documents doivent être fournis prêts à cliquer.
- 6° Les légendes des figures doivent être indépendantes des documents d'illustration.
- 7° Chaque article doit être accompagné d'un sommaire qui en résume les points essentiels. Il sera joint une traduction de ce sommaire en deux autres langues.
- 8° La disposition de la bibliographie doit être conforme aux règles suivantes de présentation : Date. Nom. (prénom). — Titre de l'article (titre du périodique. Année. Numéro du tome, pages de début et de fin de l'article).
- 9° Les épreuves sont adressées aux auteurs pour correction. Elles doivent être retournées **SANS DÉLAI** au secrétaire : G. Richard, Laboratoire de Biologie Animale, Faculté des Sciences, RENNES (I-et-V.) — France.

ÉDITIONS DU CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

I. — Publications périodiques. — Le BULLETIN SIGNALÉTIQUE. — Le Centre de Documentation du C. N. R. S. publie un « Bulletin Signalétique » dans lequel sont signalés par de courts extraits classés par matières tous les travaux scientifiques, techniques et philosophiques publiés dans le monde entier. Abonnement annuel (y compris la Table générale des Auteurs).

2° partie (biologie, physiologie, zoologie, agriculture).

France : 120 NF. Étranger : 150 NF.

Tirage à part, 2° partie, Section XI (biologie animale, génétique, biologie végétale).

France : 61 NF. Étranger : 66 NF.

Section XII (agriculture, aliments et industries alimentaires).

France : 19 NF. Étranger : 24 NF.

Abonnement au Centre de Documentation du C. N. R. S., 16, rue Pierre-Curie, Paris (V°). C. C. P. Paris 9131-62. Tél. : DANton 87-20.

ARCHIVES DE ZOOLOGIE EXPÉRIMENTALE ET GÉNÉRALE. — Revue trimestrielle publiée sous les auspices du « Comité des Archives de Zoologie expérimentale et générale ».

Prix de l'abonnement : France : 45 NF. Étranger : 50 NF.

Vente : Presses de la Cité, 116, rue du Bac, Paris (VI°).

JOURNAL DES RECHERCHES DU C. N. R. S. — Publication trimestrielle.

Abonnement annuel (4 numéros) : France : 8 NF. Étranger : 10 NF.

Prix du numéro : France : 2,20 NF. Étranger : 2,75 NF.

Vente : Laboratoires de Bellevue, 1, place Aristide-Briand, Bellevue.

II. — Ouvrages. — Franklin PIERRE : *Écologie et Peuplement entomologique des sables vifs du Sahara Nord-Occidental*. 1 vol. in-8° raisin, de 332 pages et 16 planches, relié pleine toile jaune. 32 NF.

III. — Colloques internationaux. — XXXII : *Écologie*. 27 NF.
XXXIV : *Structure et Physiologie des Sociétés animales*. 25 NF.

Renseignements et Vente : Service des publications du C. N. R. S., 13, quai Anatole-France, Paris (VII°). C. C. P. Paris 9061-11. Tél. : INV. 45-95.

SOMMAIRE

| | |
|--|-----|
| Facteurs d'asymétrie et facteurs de régulation dans la construction du dôme chez <i>Formica rufa</i> . IV, par Rémy CHAUVIN | 201 |
| Mode of action of the inhibitory substance of the honey-bee queen, by A. van ERP | 207 |
| Erreurs d'orientation de la reine abeille au retour de son vol nuptial, par le Docteur Maurice MATHIS | 213 |
| Adoptions expérimentales de larves entre des fourmis de genres différents (II) : <i>Myrmica laevinodis</i> Nylander et <i>Anergates atratulus</i> Schenck, par Luc PLATEAUX | 221 |
| Field experiments on colony foundation by <i>Lasius niger</i> (L.) and <i>L. flavus</i> (F.) (Hym., Formicidae), by A. J. PONTIN | 227 |
| Ethological peculiarities of the primitive social bees, <i>Allodape</i> Lepeltier and allied genera, by Shôichi F. SAKAGAMI | 231 |
| The initiation of fungus comb construction in laboratory colonies of <i>Ancistrotermes guineensis</i> (Silvestri), by W. A. SANDS | 251 |
| The early establishment of dimorphism in the female honeybee, <i>Apis mellifera</i> L., by R. W. SHUEL and S. E. DIXON | 265 |
| Des considérations écologiques peuvent-elles apporter une contribution à la connaissance du cycle biologique des colonies de <i>Cremastogaster</i> (Hymenoptera-Formicoidea) ? par J. SOULIÉ | 283 |